FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

ANNÉE 1941 N° 14

Thèse présentée pour le Doctorat en Médecine

par

ARON Robert

Né le 26 janvier 1915 à Nancy (Meurthe-et-Moselle)
Interne des Hôpitaux de Strasbourg

Nouvelle méthode de Sérodiagnostic de la Syphilis

Président : M. PAUTRIER, Professeur à la Faculté de Médecine de Strasbourg

CLERMONT-FERRAND
IMPRIMERIE GÉNÉRALE, DE BUSSAC, 2, COURS SABLON

1941

FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

ANNÉE 1941 N° 14

Thèse présentée pour le Doctorat en Médecine

par

ARON Robert

Né le 26 janvier 1915 à Nancy (Meurthe-et-Moselle)
Interne des Hôpitaux de Strasbourg

Nouvelle méthode de Sérodiagnostic de la Syphilis

Président : M. PAUTRIER, Professeur à la Faculté de Médecine de Strasbourg

CLERMONT-FERRAND
IMPRIMERIE GÉNÉRALE, DE BUSSAC, 2, COURS SABLON

1941

FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

Doyen	MM.	André FORSTER ✻ ◐ I.
Assesseur		P. ROHMER ✻ ◐ I.

Professeurs titulaires

Clinique médicale B	MM.	AMBARD ✻ ◐ I.
Embryologie et tératologie		ANCEL ✻ ◐ I.
Clinique neurologique		BARRE ✻ ◐ I.
Histologie		N....
Clinique O.R.L.		N....
Anatomie		FORSTER ✻ ◐ I.
Thérapeutique chirurgicale		FONTAINE ◐ A.
Chimie biologique		NICLOUX ✻ ◐ I.
Hygiène et bactériologie		OBERLING ✻ ◐ I.
Clinique dermatologique		PAUTRIER ✻ ◐ A.
Clinique psychiâtrique		PFERSDORFF ✻ ◐ I.
Clinique ophtalmologique		REDSLOB ✻ ◐ I.
Clinique gynécologique		REEB ◐ I.
Clinique infantile		ROHMER ✻ ◐ I.
Physiologie		SCHAEFFER ✻ ◐ I.
Pharmacologie et Médecine Expérimentale		SCHWARTZ ◐ I.
Médecine légale et médecine sociale		SIMONIN ✻ ◐ A.
Hydrologie et climatologie		VAUCHER ✻ ◐ I.
Physique biologique		VLÈS ✻ ◐ I.
Clinique chirurgicale B		WEISS ✻ ◐ A.
Clinique Médicale		N....

Professeurs sans chaire

Histologie	MM	ARON ✻ ◐ I.
Anatomie		BELLOCQ ✻ ◐ I.
Anatomie pathologique		GÉRY ◐ I.

Chargés de cours et agrégés

MM.	CALLOT	MM	GELMA ✻ ◐ I.	MM.	HANNS ✻ ◐ I.
	HUMBERT ✻ ◐ A.		KAYSER ◐ A.		KELLER ◐ I.
	KLEIN		REISS ◐		ROMEY ✻ ◐ A.
	SACREZ		THIVOLLE ◐ A.		TULASNE
	WARTER				

Chargé d'un cours complémentaire

M. ROEDERER ◐ I.

Agrégé libre

M. SIMON ✻ ◐ A.

Professeurs honoraires

M. CHAVIGNY ✻ ◐ I. M. STOLZ ✻ ◐ I. M. WEILL ✻ ◐ I.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école, de mes chers condisciples, je promets et je jure au nom de l'Etre suprême d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe.

Ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis resté fidèle à mes promesses ! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !

A MES PARENTS

ET A MES FRERES

A MA GRAND'MERE

A LA MEMOIRE DE MES GRANDS-PARENTS

A TOUS LES MIENS

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR PAUTRIER

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

dont le lumineux enseignement, au cours des années passées dans son service comme Externe, puis comme Interne, m'a marqué de la plus profonde empreinte et a déterminé mon orientation médicale.

En hommage de respectueuse gratitude et de fidèle dévouement.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BOUIN

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

En tribut de reconnaissance pour l'accueil que j'ai trouvé dans son Institut, et pour les affectueux conseils qu'il m'a constamment prodigués.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CASTAIGNE

DIRECTEUR DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE DE CLERMONT-FERRAND

COMMANDEUR DE LA LÉGION D'HONNEUR

A qui je dois, en des circonstances difficiles, l'hospitalité qui m'a permis de poursuivre cette recherche, avec l'expression de ma déférente gratitude.

A MESSIEURS LES PROFESSEURS

MEMBRES DE MON JURY DE THESE

A MES MAITRES DE LA FACULTE

DE MEDECINE DE STRASBOURG

A MES AMIS

INTRODUCTION

Environ les années 1889-1890, *un grand nombre d'auteurs, étudiant les problèmes de l'immunité, parvenaient à mettre en évidence le pouvoir bactéricide du sang normal et les propriétés particulières qu'acquiert le sérum des animaux vaccinés contre les agents microbiens et contre leurs toxines. Ils démontraient, en outre, que le pouvoir lytique du sérum sanguin ne s'exerce pas seulement sur les microbes, mais constitue une propriété générale que le sérum acquiert du fait de l'immunisation vis-à-vis des substances organiques, ou antigènes, qui ont servi à l'immuniser.*

Dans une série de travaux mémorables (1896-1900), *Bordet établissait que ce pouvoir lytique dépend de deux propriétés : l'une, détruite à* 56° *représente l'alexine de Büchner, le complément d'Ehrlich ; l'autre thermostable, n'existant que chez l'animal immunisé et conférant au sérum son action spécifique : Bordet l'appelle sensibilisatrice, Ehrlich ambocepteur. Leur mode d'action est le même qu'il s'agisse de bactériolyse ou d'hémolyse, la sensibilisatrice attaquant l'antigène à la façon d'un mordant et le préparant à subir l'action dissolvante de l'alexine.*

C'est sur cette conception que Bordet et Gengou fondaient en 1901 *la réaction de caractère absolument général, qui porte leur nom et dont Wassermann en* 1906, *avec ses collaborateurs Neisser et Brück, tentaient l'application au cas particulier de la syphilis, parvenant à mettre au point la première méthode de séro-diagnostic de cette affection.*

Après eux, de nombreux sérologistes devaient faire subir à la technique primitive de Wassermann de multiples modifications, les uns conservant au complément la première place dans la réaction, les autres négligeant ce facteur et créant une variété nouvelle de séro-diagnostic, où n'interviennent plus que deux éléments : l'antigène et

les anticorps et qui repose sur une réaction de floculation.

Nous avons nous-même, ces dernières années, mis au point une méthode nouvelle de diagnostic sérologique de la syphilis. Afin de mieux dégager la nouveauté du principe qui existe à sa base et afin d'essayer plus tard de conclure quant à sa valeur théorique et pratique, il ne nous semble pas inutile d'aborder ce travail par un rappel succinct des différents procédés de séro-diagnostic de la syphilis. Nous exposerons ensuite les données relatives à notre méthode. Chemin faisant, nous verrons comment on a été amené à concevoir cette réaction, sa technique initiale et les perfectionnements qui y ont été apportés, les résultats qu'elle fournit.

Nous discuterons, pour terminer, son intérêt pratique, les conséquences à dégager de sa nature et des relations étroites qui existent entre elles et d'autres réactions sérologiques récentes dont, comme on le verra, elle s'est inspirée.

NOTIONS THÉORIQUES SUR LES MÉTHODES DE DIAGNOSTIC SÉROLOGIQUE DE LA SYPHILIS

Nous n'avons pas l'intention, au cours des lignes qui vont suivre, de passer en revue toutes les réactions sérologiques de la syphilis. Demanche, au cours de son étude des réactions sérologiques de la syphilis, dans le traité de la syphilis de Jeanselme, en décrit une soixantaine sans d'ailleurs être complet. Un tel travail n'a pas sa place ici. Aussi désirons-nous seulement essayer, après avoir exposé le principe des plus importantes d'entre elles et sans entrer dans aucun détail technique, d'en dégager le mécanisme d'action et la valeur pratique.

Nous insisterons plus particulièrement sur les réactions dites de floculation qui se rapprochent davantage de notre réaction.

MÉTHODES DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT ET MÉTHODES DITES DE FLOCULATION

A) MÉTHODES DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT

Ces méthodes utilisent la présence, dans le sérum, du complément d'Ehrlich pour la mise en évidence des réactions antigène-anticorps. Une première division essentielle peut être établie entre les diverses réactions appartenant à cette catégorie, selon que le sérum à examiner a été inactivé par chauffage à 56° ou qu'il est employé sans modifications, tel qu'il se présente après centrifugation du sang recueilli par ponction veineuse.

Nous décrirons donc séparément :

Les méthodes au sérum chauffé,
Les méthodes au sérum frais.

1°. — LES MÉTHODES AU SÉRUM CHAUFFÉ.

Ce sont les méthodes types de la réaction de Wassermann, dérivant directement de la réaction de Bordet-Gengou ; de même que cette dernière, la réaction de Wassermann est essentiellement une réaction à deux temps :

Dans un premier temps, on met en présence un antigène spécifique, le sérum à examiner et le complément.

Dans un deuxième temps, on recherche si le complément a été fixé sur l'antigène par l'intermédiaire de l'ambocepteur syphilitique en le mettant en présence d'un nouvel antigène (hématies) et d'un nouvel ambocepteur (sérum hémolytique).

En cas de réaction positive, les hématies demeurent intactes, toute l'alexine ayant été fixée pendant le premier temps de la réaction. En revanche, lorsque le sérum examiné provient d'un sujet indemne de syphilis, autrement dit dépourvu de la sensibilisatrice nécessaire à la formation du complexe sur lequel vient se fixer le complément, ce dernier, resté disponible, va se porter sur les hématies sensibilisées et en déterminer la lyse.

Ainsi cinq éléments interviennent dans la réaction de Wassermann :

L'antigène, le complément, le sérum hémolytique, les globules rouges, le sérum suspect,

Et chacun d'eux a une origine distincte : le sérum du malade et le sérum hémolytique, sérum de lapin antimouton, inactivés l'un comme l'autre, ne contiennent que leur ambocepteur spécifique, réagine syphilitique d'une part, hémolysine d'autre part. Le complément est fourni par du sérum frais de cobaye. Les hématies sont des hématies de mouton.

Quant à l'antigène, élément fondamental dont dépend la sensibilité et la spécificité de la réaction, il a présenté une grande diversité selon les cas.

Wassermann et Brück avaient montré en 1905 qu'on peut provoquer la réaction de Bordet-Gengou en remplaçant les cultures microbiennes par leurs extraits. Croyant, à l'origine, à la spécificité bactériologique de l'antigène, ils employaient des extraits aqueux d'organes riches en tréponèmes, comme le foie d'hérédo-syphilitique mort-né.

Dès 1907, Levaditi et Marie démontrent qu'il est possible de substituer à l'antigène spécifique un extrait d'organe normal et que la partie active de cet extrait est soluble dans l'alcool.

Enfin, en 1909, Noguchi établit que, dans ces extraits alcooliques, seule la fraction insoluble dans l'acétone a un rôle actif.

Il en résulte, en définitive, que l'antigène est constitué par la fraction des lipoïdes organiques solubles dans l'alcool à 95° après élimination des lipoïdes éthéro ou acétono-solubles. On a cherché, depuis lors, par l'adjonction de lipoïdes définis, comme la cholestérine, à augmenter la sensibilité de ces extraits alcooliques.

Ainsi que nous l'avons déjà dit, d'innombrables modifications ont été apportées à la méthode de Wassermann, chaque sérologiste ayant tenté, ou de simplifier la technique, ou d'augmenter la spécificité de la réaction en éliminant certaines causes d'erreur.

Mais, comme le Wassermann, ces méthodes nécessitent toujours la préparation d'un système hémolytique spécial, ce qui complique leur exécution. Par contre, elles ont, comme la méthode dont elles dérivent, l'avantage de permettre un titrage préalable de chacun de leurs composants.

On peut, d'après leur principe directeur, en distinguer schématiquement trois catégories :

1. — Celles où le nombre des réactifs utilisés dans la réaction a été diminué par l'emploi du complément et de la sensibilisatrice hémolytique contenus dans un même sérum.

Rubinstein utilise ainsi un sérum de cobaye antimouton. Detre et Brezowsky font appel à un sérum de lapin antibœuf. Malaskowetz et Liebermann s'adressent au sérum de porc qui contient une sensibilisatrice naturelle antimouton.

2. — Celles qui, pour éviter de tenir compte des sensibilisatrices antimouton normalement contenues dans le sérum humain, emploient un système hémolytique autre que le système antimouton.

C'est ainsi que Boas fait intervenir un ambocepteur antichèvre, Brownig et Mc Kensie un ambocepteur antibœuf, et que l'on voit d'autres auteurs, Tschernogubow le premier en 1908, puis Noguchi, Thompson, Buttler et Landon, Myer, utiliser un ambocepteur antihomme en présence d'hématies humaines, vis-à-vis desquelles le sérum humain est inactif.

3. — **Celles qui, sans modifier la nature des termes de la réaction de Wassermann, y introduisent une modification technique destinée à en accroitre la sensibilité.**

En tête vient la réaction de Demoulière qui doit à son antigène (extrait alcoolique de foie humain cholestériné) d'être la plus sensible des méthodes au sérum chauffé. Parmi les autres, citons :

la réaction de Jacobstahl qui opère la fixation du complément dans le premier temps de la réaction à la température de la glace fondante ;

la réaction de Bordet-Ruelens qui emploie l'antigène à dose constante, tandis que varie le sérum du malade, et donne ainsi des réactions nettes avec des sérums faiblement positifs ;

la méthode de Calmette et Massol où l'on emploie des quantités croissantes d'alexine en présence de quantités constantes d'antigène et de sérum, de manière à avoir une estimation quantitative du degré de positivité de la réaction ;

la méthode de Mathis et Labougle qui modifie la technique de Calmette-Massol, en supprimant le titrage préalable du complément ;

la technique de Demanche, et enfin celle de Calmette-Massol modifiée par Demanche.

2°. — LES MÉTHODES AU SÉRUM FRAIS.

Bauer, dès 1908, avait indiqué que le sérum humain contient des hémolysines naturelles et que cette propriété, évitant la préparation d'un sérum hémolytique artificiel, pouvait être mise à profit dans le Wassermann. L'année suivante, Marguerite Stern montrait qu'on pouvait éviter la double opération du chauffage du sérum et de la préparation du complément de cobaye en utilisant le sérum suspect sans l'inactiver au bain marie à 56°.

La réaction de Hecht — qui est à l'origine de toutes les réactions dites « au sérum frais » — procède de cette double simplification. D'exécution plus facile, d'une sensibilité plus grande que les réactions au sérum chauffé, elle dut à ces deux qualités une diffusion rapide.

En revanche, on ne devait pas tarder à se rendre compte qu'elle comportait une cause d'erreur importante, dans la variabilité du pouvoir hémolytique des sérums humains : lorsque ce pouvoir était trop faible, il ne se produisait pas d'hémolyse, et quand il était trop fort, il

entravait la fixation du complément, conduisant à des résultats négatifs même avec des sérums syphilitiques.

Un nombre considérable de procédés a été proposé pour pallier à ce défaut. Demanche, dans le traité de Jeanselme, les classe en trois catégories :

I. — **Les méthodes utilisant l'hémolysine et le complément du sérum suspect :**

Elles dérivent directement de la méthode de Hecht.

Certaines se bornent à corriger empiriquement la variation du pouvoir hémolytique du sérum :

Réaction de Levaditi et Latapie.

Réaction de Chabanier, Mlle Lebert et Bétancer.

Les autres comprennent un véritable titrage du pouvoir hémolytique global du sérum et règlent la réaction d'après les résultats qu'il fournit.

Plusieurs moyens ont été imaginés pour faire ce titrage :

a) *Emploi de doses variables de globules rouges.*

Réaction de A. Bauer et Hallion.

Réaction de Weinberg.

Réaction de Mutermilch (Technique de l'Institut Pasteur de Paris).

Réaction de Beretvas (technique italienne).

Réaction de Bubinstein.

Réaction de Maurice Renaud.

b) *Saturation de l'hémolysine par additions successives de globules rouges.*

Réaction d'Eschbach et Duhot.

c) *Mesure de la vitesse de l'hémolyse.*

Réaction de Tribondeau.

Réaction de Telmon.

d) *Emploi de doses variables de complément.*

1. Au moyen de sérum seul

à doses variables : Réaction de Ronchèse (méthode rapide) ;

à doses constantes, par addition de sérum chauffé : Réaction de Rodillon.

2. Au moyen de sérum suspect renforcé par du sérum de cobaye : Réaction de Busila.

II. — **Les méthodes utilisant une hémolysine étrangère.**

Elles abandonnent une des simplifications de la méthode de Hecht pour se mettre à l'abri des variations de l'ambocepteur du sérum suspect, et introduisent dans la réaction une sensibilisatrice étrangère titrée. Et pour annuler complètement l'action de l'hémolysine naturelle du sérum humain, elles s'adressent à un ambocepteur anti-homme, remplaçant les globules rouges de mouton par des hématies humaines.

Réaction de Noguchi (deuxième méthode).

Réaction de Ronchèse (méthode principale).

III. — **Les méthodes utilisant une hémolysine et un complément étrangers.**

Elles renoncent à la simplicité des méthodes au sérum frais pour allier la sensibilité de celles-ci à la précision et à l'exactitude des méthodes au sérum chauffé.

Réaction de Noguchi (première méthode).

Réaction de Debains.

IV. — Citons pour terminer la réaction proposée par Prunell de Montevideo, qui occupe une place à part. Fondée sur le pouvoir disperseur hémolytique de l'acide acétique dilué, elle n'utilise ni ambocepteur hémolytique ni complément et fait le trait d'union entre les réactions de déviation du complément et les réactions de floculation que nous allons maintenant envisager.

B) MÉTHODES DITES DE FLOCULATION

La syphilis provoque dans le sérum des malades diverses modifications physico-chimiques, et en particulier une certaine instabilité de leurs albumines et de leurs globulines, en raison de laquelle ils précipitent plus facilement que les sérums normaux en présence de réactifs variés (alcools, acides, etc.). Les réactions qui se produisent ainsi sont appelées réactions de précipitation. Elles n'ont plus qu'un intérêt historique, mais ont eu le mérite de mettre en évidence cette labilité du sérum syphilitique et d'ouvrir la voie aux réactions de floculation. Celles-ci, qui relèvent de la physico-chimie des colloïdes, sont des réactions directes, résultat de l'action réciproque de deux solutions colloïdales, l'une représentée par le sérum, l'autre par l'antigène, et caractérisées par la formation d'un précipité floconneux ou floculat, directement constatable.

Elles diffèrent en cela des réactions de fixation du complément dont le résultat ne se manifeste que par l'intermédiaire d'une réaction indicatrice surajoutée, l'hémolyse.

Dès 1907, Levaditi et Yamanouchi, étudiant le mécanisme de la réaction de Wassermann, avaient constaté que le sérum des syphilitiques précipite au contact des sels biliaires et des lipoïdes du foie.

De nombreux auteurs essayèrent alors de substituer aux extraits d'organes des corps chimiques définis à l'état colloïdal, lécithine, cholestérine, glycocholate de soude.

Puis Porges et ses élèves démontrèrent que pour certaines proportions de réactifs, on obtenait une floculation avec des sérums normaux, et que seule l'étendue de la zone de floculation les distinguait des sérums syphilitiques.

Par ailleurs, Jacobstahl (1909) avait constaté que, si la floculation est souvent trop discrète pour être visible à l'œil nu, elle n'en existe pas moins, et fondé sur ce principe sa méthode ultramicroscopique de séro-diagnostic de la syphilis.

Mais ce n'est qu'entre les années 1917 et 1921 que Meinicke et Sachs-Georgi en Allemagne, Vernes en France, réussirent à réaliser l'utilisation pratique de la floculation pour le séro-diagnostic de la syphilis.

Dès lors, elle se répandit rapidement. Les techniques et les perfectionnements se multiplièrent.

Dold (en 1921-1922) montre que l'adjonction de teinture de résine à l'antigène fournit une suspension colloïdale plus grossière dont la floculation est plus rapide et plus visible.

Brück, en 1922, fit un nouveau pas en avant, grâce à l'emploi des antigènes cholestérinés et concentrés.

Quoi qu'il en soit, toutes ces réactions ont un caractère commun : le réactif qui sert à provoquer la floculation est un extrait alcoolique d'organe, identique aux antigènes de la réaction de Wassermann. Selon les modifications successives subies par ces antigènes, on peut classer les réactions de floculation en trois catégories (Demanche) :

I. — **Les réactions utilisant un antigène semblable à celui de la Réaction de Wassermann.**

R. de Jacobstahl (1910).

R. de Brück et Hidaka (1911)

R. de Terruchi et Toyoda (1910).

R. I. (Wasser Methode) et II (Kochsalz Methode) de Meinicke (1917-1918).

R. de Sachs-Georgi (1918-1920).

R. III (Dritte Modification [D. M.]), de Meinicke (1919).

R. de Dreyer et Ward (1921).

R. de Vernes (1918-1921).

R. de Kodama (1921).

R. de Murata (1922).

R. I. et II de Hecht (1921 et 1923).

R. de Wang (1922).

R. de Hohn (1923).

De cette longue énumération nous ne retiendrons, à titre d'exemples, que la troisième réaction de Meinicke (D. M.), la réaction de Sachs-Georgi et la réaction de Vernes.

I. — Réaction de Meinicke (D. M.).

Les deux premières méthodes de Meinicke, R. I. et R. II, étaient fondées sur le mode d'action particulier des lipoïdes contenus dans les antigènes en présence des anticorps syphilitiques et des globulines qui leur servent de support, la fixation des lipoïdes par les globulines syphilitiques dans un premier temps de réaction empêchant, dans un deuxième temps, la précipitation de ces dernières par l'eau distillée ou leur redissolution par l'eau salée.

La D. M., qui se pratique en un seul temps, consiste dans la recherche directe de la floculation par le simple mélange de sérum syphilitique et d'un extrait de cœur de cheval en suspension dans du sérum hypertonique, renforcé ou non par l'addition d'acide benzoïque.

II. — Réaction de Sachs-Georgi :

Cette réaction diffère de la réaction de Meinicke par la concentration du milieu salin qui est isotonique et non plus hypertonique, et par l'emploi, comme antigène, d'un extrait de cœur de bœuf additionné de cholestérine qui en augmente la sensibilité ainsi que Sachs, puis Démoulière, l'avaient déjà constaté à propos de la réaction de Wassermann. La lecture des résultats se fait à la loupe au bout de 18-24 heures d'étuve. Cette réaction est actuellement désignée sous le nom de réaction au lentochol, qui rappelle la lenteur (lento) de la réaction et la présence de cholestérine (chol) dans l'extrait.

III. — Réaction de Vernes.

Cet auteur avait constaté, dans une première série de recherches, que si l'on met du sérum sanguin en présence d'une suspension minérale colloïdale, il se produit, lorsqu'on augmente progressivement la concentration de l'un des éléments, des alternatives de floculation et de non-floculation selon un rythme qui dépend, pour une même quantité de suspension minérale, de la concentration du sérum et, pour une même quantité de sérum, de la concentration en suspension minérale ; que le sérum syphilitique possède un pouvoir de surfloculation par rapport au sérum normal ; qu'il y a intérêt à substituer aux suspensions minérales grossières des suspensions plus fines dont l'état physique soit bien réglé, conditions remplies par les extraits alcooliques des tissus les plus variés, quelle que soit leur origine.

Vernes s'adresse à un extrait de cœur de cheval dont il règle l'état physique (représenté par la grosseur des granules en supension qui dépend de l'ordre de répartition des liquides, de la vitesse du mélange, du degré d'agitation auquel on le soumet, de la nature et de la concentration des électrolytes ajoutés) de sorte qu'il floculе avec le sérum syphilitique et ne floculе pas avec le sérum normal.

En résumé, le principe de la Réaction de Vernes repose sur le fait qu'en présence d'une solution colloïdale appropriée, la nature syphilitique d'un sérum se traduit par un écart de stabilité de la suspension colloïdale et, chez un même sujet, par des variations de cet écart correspondant aux phases de la maladie.

Toutes les conditions de l'expérience ont été déterminées avec un soin extrême et l'auteur a pu en formuler la technique avec une précision qui réduit au minimum le coefficient de subjectivité du sérologiste, et assure aux résultats une constance remarquable.

II. — Réactions d'opacification utilisant les teintures de résine.

R. de Dold (1921 et 1922).

R. de Meinicke M.T.R. (1922) et M.K.R. (1928-1929).

R. de Dujarric de la Rivière (1923).

R. de Sachs et Klopstock (1924).

R. de Starobinsky (1924).

R. de Douris et Beck (1928).

Nous ne décrirons ici que la méthode la plus récente de Meinicke qui date de 1932 : LA RÉACTION DE CLARIFICATION (MEINICKE KLARUNGS REAKTION [M. K. R. II]), laquelle, aux yeux même de son auteur, a, par sa sensibilité accrue, sa lecture plus nette, détroné la réaction d'opacification (Meinicke Trübungs Reaktion [M. T. R.]) qui avait marqué en son temps un progrès considérable.

L'antigène est un extrait alcoolique de cœur de bœuf épuisé préalablement par l'éther, riche en lipoïdes, additionné de teinture de Tolu et coloré au Bleu Victoria, réparti en 2 suspensions de sensibilité différente, dans le sérum hypertonique (à 3,5 %), l'une neutre, très sensible, l'autre légèrement alcaline, plus stable mais moins sensible. La suspension neutre conviendra donc aux sérums moyennement et faiblement positifs, la suspension alcaline aux sérums hyperpositifs.

La réaction possède ainsi une souplesse qui lui permet de saisir tous les degrés de réactivité des sérums sans que l'on ait à redouter les phénomènes de zone.

III. — Réactions utilisant un antigène cholestériné concentré.

R. de Brück (1922-1923).

R. de Kahn (1922-1928).

R. de Sachs et Witebsky (1928).

R. de Muller.

Dans toutes les réactions que nous avons vues jusqu'ici, on utilisait un antigène dilué de manière à former une suspension colloïdale, renforcée ou non par une teinture de résine. Les réactions de Kahn, Sachs et Witebsky, Muller, utilisent, pour augmenter la netteté et la rapidité de la floculation, des émulsions colloïdales sur lesquelles, ainsi que Brück l'avait montré, les sérums syphilitiques ont une action agglutinante, et les sérums normaux au contraire une action dispersive.

I. — LA RÉACTION DE KAHN.

Très en faveur depuis les Conférences internationales de Sérologie de Copenhague (1928), et de Montevideo (1930), elle utilise un extrait alcoolique au 1/6e de cœur bœuf épuisé par l'éther, cholestériné à 0,6 % et dilué à parties égales avec de l'eau physiologique.

Kahn a déterminé avec précision les conditions optimales du phénomène de Brück : concentration des lipoïdes de l'extrait supprimant les phénomènes de zone,

quantité minima de sérum physiologique, proportion optima du sérum et de l'antigène pour éviter l'inhibition par excès, emploi de la plus petite quantité possible des deux éléments, l'augmentation du volume total ayant tendance à restreindre la précipitation, agitation pour accélérer la coalescence des particules sérum-antigène.

La lecture des résultats se fait au-dessus d'un miroir concave dans lequel on examine l'image agrandie de l'agglutination.

II. — Réaction de Sachs-Witebsky.

Cette réaction procède à la fois de la réaction au lentochol et des perfectionnements apportés par Kahn aux méthodes de floculation.

Les résultats rapides qu'elle fournit lui ont valu le nom de réaction au citochol.

III. — Réaction de conglomération de Muller (Ballungs Reaktion).

Cette réaction emploie aussi un antigène cholestériné concentré. Mais la concentration est opérée sur l'extrait alcoolique lui-même avant sa dilution. Elle est caractérisée par la formation dans les cas positifs d'un conglomérat unique, jaunâtre, gélatineux, flottant à mi-hauteur de la colonne liquide. Cette méthode, par sa sensibilité, sa spécificité, la netteté de ses résultats, exclut à peu près totalement les résultats douteux. Elle permet, par la vitesse de la floculation, une appréciation quantitative du degré de positivité.

NATURE ET MÉCANISME DES RÉACTIONS SÉROLOGIQUES DE LA SYPHILIS ÉTUDE COMPARATIVE DE LEUR VALEUR PRATIQUE

I. NATURE ET MÉCANISME DES RÉACTIONS SÉROLOGIQUES DE LA SYPHILIS

Suivant l'évolution des idées concernant la nature des réactions sérologiques de la syphilis, on peut distinguer trois périodes.

Tout d'abord, nous l'avons déjà vu, la réaction de Wassermann fut considérée comme une réaction spécifique d'antigène à anticorps, au même titre que la réaction de Bordet et Gengou dont elle dérivait, et ses auteurs utilisaient comme antigène, à défaut de cultures microbiennes, des extraits aqueux d'organes riches en tréponèmes.

Mais dès 1907, Levaditi et Marie montraient qu'on peut substituer à l'antigène spécifique un extrait d'organe sain.

Puis Landsteiner, Muller et Poetzl, Porges et Meier, Levaditi et Yamanouchi découvraient qu'on peut substituer aux extraits aqueux des extraits alcooliques d'organes dont la fraction active est représentée par des substances lipoïdiques qui, si elles sont aptes à réagir *in-vitro* avec les humeurs syphilitiques, sont incapables *in-vivo* de déterminer la formation d'anticorps.

D'un autre côté, Levaditi et Yamanouchi constataient que « le liquide céphalo-rachidien des paralytiques généraux ayant donné une séro-réaction positive ne contient aucune substance capable d'agir sur le tréponème pour amoindrir ou annihiler sa virulence pour le singe ».

Dès lors, la théorie de l'immunité s'effondrait, tandis que se substituait à elle celle de la non-spécificité de la réaction de Wassermann. Et Levaditi concluait en 1908 : « La séro-réaction de la syphilis et de la paralysie générale, tout en étant caractéristique de l'affection, est attribuable à l'existence, dans le sérum et dans le liquide céphalo-rachidien, de certains composés à l'état colloïdal qui, en présence des sels biliaires et des lipoïdes du foie, déterminent la fixation du complément ».

On doit à cette théorie, du point de vue pratique, deux découvertes, conséquences, l'une de la mise en évidence de la nature non spécifique de l'antigène, l'autre de celle des caractères non spécifiques des sérums syphilitiques. C'est, pour la première, l'emploi d'extraits d'organes normaux. Et, pour la seconde, la mise au point des réactions de floculation dont le principe repose sur la précipitabilité spéciale que confère aux sérums syphilitiques leur enrichissement en globulines et en lipoïdes libérés des tissus sous l'influence du virus syphilitique.

La conception de la non spécificité du Wassermann devait prévaloir, — avec la force d'un dogme — pendant une vingtaine d'années.

Mais, en 1928, Sachs, à la suite de travaux commencés trois ans plus tôt avec Klopstock et Weil, remet en question dans un article intitulé : « Les Problèmes de Physiologie pathologique et les conceptions nouvelles de l'immunité » (*Wien, Klin, Woch.*) la théorie immunologique de la réaction de Wassermann. Selon cet auteur, « les modifications qui se produisent dans le sang des syphilitiques consistent réellement en une formation d'anticorps ». Il ne s'agit pas d'anticorps microbiens, mais d'anticorps antilipoïdiques, et la réaction qui se produit est « une réaction d'immunité contre les lipoïdes ».

On voit donc en définitive qu'on se trouve en présence de deux conceptions, encore très théoriques du reste, des réactions sérologiques de la syphilis.

Pour la première, ces réactions sont d'ordre physico-chimique, et on a d'abord cherché à expliquer leur mécanisme par l'étude des propriétés chimiques et physico-chimiques du sérum et de l'antigène. Cette recherche devait se montrer décevante. On vit bien que l'antigène est un composé lipoïdique dont l'activité est fonction du degré de dispersion des particules dans la phase liquide ; que, dans le sérum, la réagine syphilitique accompagne les euglobulines ; que les lipoïdes y sont augmentés sans qu'il y ait de rapport entre cette augmentation et l'inten-

sité des réactions ; que les acides aminés paraissent jouer un rôle, et qu'enfin tension superficielle et viscosité sont plus élevées que normalement. Mais aucune de ces propriétés n'apportait d'éclaircissement au problème du mécanisme des réactions.

On s'orienta alors vers l'étude des conditions d'équilibre physico-chimique des deux composants : antigène et sérum.

Il semble que la réaction de Wassermann, comme les réactions de floculation, soit un phénomène d'ordre colloïdal. Les globulines du sérum subiraient dans la syphilis des modifications portant sur leur charge électrique « ayant pour effet — comme l'écrit Demanche — de diminuer leur stabilité et de provoquer une tendance à la floculation et à l'adsorption d'autres colloïdes du sérum, y compris ceux qui possèdent la fonction de complément ».

Selon Baumgartel, Epstein et Paul, Cesari et Lévy-Brühl, ces globulines labiles seraient amphotères ou légèrement électro-positives. Elles fixeraient par adsorption les ions Na + de la solution saline et feraient floculer par neutralisation les lipoïdes électro-négatifs de l'antigène. Au contraire, dans les sérums normaux, la globuline stable et électro-négative contribuerait à élever le potentiel des lipoïdes de même charge et les protégerait des ions positifs de la solution saline.

On peut reprocher à la théorie purement physique le fait que la réaction de Wassermann se produit dans des milieux très différents du sérum, ce qui semble impliquer l'existence de quelque substance spécifique. Est-ce là cette substance extraite par Vernes des sérums syphilitiques par centrifugation prolongée à grande vitesse ou par floculation en présence du péréthynol et qu'il appelle pallidine ? Elle confère, pour cet auteur, au sérum syphilitique toutes ses propriétés, et en particulier son transport d'un sérum spécifique à un sérum normal provoque chez ce dernier une altération de transparence égale à celle qu'elle donnait au photomètre dans le sérum syphilitique.

Quoi qu'il en soit, on sait que les sérums normaux rendus artificiellement positifs redeviennent négatifs si on en extrait les globulines, tandis que les sérums syphilitiques demeurent positifs même après extraction de leurs globulines.

Les globulines pourraient donc prêter à des réactions non spécifiques strictement physiques, et à des réactions de fixation du complément où interviendrait un véritable anticorps.

Pour Sachs, nous l'avons dit, cet anticorps est un anti-lipoïde et c'est à son action — spécifique — sur les extraits d'organe que serait due la floculation. Il se formerait dans le sérum des syphilitiques ou sous l'influence des lipoïdes du tréponème, ou sous l'influence des lipoïdes tissulaires mis en liberté au cours du processus de désintégration cellulaire dû à l'action du virus syphilitique.

Que conclure de ces deux théories ? Sachs, puis Cesari apportent à l'appui de leur conception un certain nombre de faits expérimentaux. Injectant à des lapins les extraits alcooliques d'organes qui servent au séro-diagnostic de la syphilis, ils montrent que le sérum de ces animaux se comporte après ce traitement exactement comme le sérum des syphilitiques.

Mais, par ailleurs, Levaditi, ayant injecté à des lapins des tréponèmes morts, constate que, si d'un côté le sérum de ces animaux donne bien une réaction Meinicke positive, d'un autre côté ils restent aptes à contracter la maladie. Et cet auteur de conclure que « les substances qui donnent lieu aux réactions sérologiques de la syphilis sont indépendantes de tout processus d'immunisation ».

Il est peut-être possible, sans aller aussi loin, de trouver un juste milieu entre ces doctrines. Les expériences de Sachs et de Cesari ne prouvent nullement qu'il y ait une immunité anti-tréponémique. Elles montrent seulement que les modifications qui se produisent dans le sang des syphilitiques consistent réellement en une formation d'anticorps et que les réactions sérologiques de la syphilis représentent des réactions d'anticorps anti-lipoïdiques à antigènes lipoïdiques. Ce n'est pas à un phénomène primaire d'immunité d'espèce bactériologique que l'on a affaire, mais à un phénomène secondaire d'immunité de groupe chimique. Il n'y a donc aucune raison de vouloir que le phénomène secondaire puisse conférer une immunité contre la syphilis, et il suffit dès lors de considérer les réactions sérologiques qui l'objectivent comme des réactions témoins de l'infection syphilitique. La théorie physique n'en perd pas sa valeur : c'est par les mécanismes qu'elle met en jeu que se réaliserait en définitive la floculation.

II. VALEUR COMPARÉE DES RÉACTIONS SÉROLOGIQUES DE LA SYPHILIS

Nous avons résumé dans un exposé volontairement succinct les principes sur lesquels reposent les principales méthodes sérologiques de la syphilis. Nous avons ensuite essayé de dégager l'essentiel des théories que l'on a proposées pour en expliquer le mécanisme. Il nous reste à voir quelle est leur valeur. Nous serons très brefs. Depuis 1921, un certain nombre de conférences internationales se sont réunies pour comparer systématiquement les différentes méthodes sérologiques. La dernière conférence a été tenue à Montevideo du 15 au 26 septembre 1930. C'est d'après ses résultats, conformes du reste à ceux fournis par la conférence précédente à Copenhague en 1928, que l'on peut juger de la valeur comparée des différentes méthodes.

Ils peuvent se résumer dans le tableau suivant :

Réactions		Résultats positifs	Résultats non spécifiques
Floculation	Kahn Présomptif	62,2%	1%
	Muller	54,4%	0,7%
	Kahn Standard	75,6%	0%
	Meinicke	69,3%	2,4%
Hémolyse	Sordelli-Miravant	63,9%	0%
	Harrisson-Wyler	55,9%	0%

Il ressort de cette confrontation que, tout d'abord, seuls le Kahn Standard, les méthodes de Sordelli-Miravent et de Harrisson-Wyler se sont montrés complètement spécifiques. Ensuite les méthodes de floculation l'emportent sur les méthodes de déviation du complément quant à la sensibilité. Et, parmi les premières, la réaction de Kahn joint à son haut degré de sensibilité la spécificité la plus rigoureuse. En outre, les méthodes de floculation prévalent par leur simplicité technique relative, par la mise en jeu d'un nombre plus restreint de facteurs, et, partant, par la diminution des causes d'erreur. En ce qui concerne

la méthode de Kahn en particulier, il semble que les chiffres que nous avons rapportés ci-dessus ont été notablement améliorés durant ces dernières années.

Mais, quels que soient leurs avantages, les réactions de floculation ne doivent pas faire rejeter dans l'oubli les réactions d'hémolyse. Les réactions de floculation donnent parfois des résultats positifs dans des cas de syphilis ou les réactions d'hémolyse restent négatives. Mais la réciproque existe.

De plus, la sensibilité des réactions est encore insuffisante : c'est ainsi qu'elles restent négatives à la période primaire de la syphilis, au stade dit préhumoral, et que seule la découverte du tréponème peut permettre un diagnostic précoce. Elles restent également fréquemment muettes à la période tertiaire, dans les formes héréditaires, dans les formes malignes précoces, dans certaines syphilis latentes.

Il semble que cette sensibilité ait atteint un plafond avec les réactions actuelles, car à partir d'un certain degré, variable pour chaque technique, tout gain réalisé pour la sensibilité est balancé par une perte de la spécificité. Or cette spécificité, nous l'avons vu, est dans son essence même très large.

Nous basant sur des travaux que Max Aron poursuit depuis 8 ans, nous nous sommes demandé s'il n'y aurait pas possibilité d'appliquer le principe de sa méthode de diagnostic du cancer au diagnostic de la syphilis, et de réaliser ainsi une réaction sérologique étroitement spécifique qui serait une véritable réaction d'immunité au sens où l'entend Levaditi.

C'est le résultat de cette recherche que nous nous proposons à présent d'exposer dans les pages qui vont suivre.

NOUVELLE MÉTHODE SÉROLOGIQUE DE DIAGNOSTIC DE LA SYPHILIS

Le 18 décembre 1933, Max Aron communiquait à l'Académie des Sciences une note intitulée « Présence dans l'urine des sujets atteints de tumeur maligne, d'un principe doué d'une action sur la cortico-surrénale ».

Cette note devait représenter le point de départ d'une longue série de recherches qui, par étapes successives, allaient aboutir à la mise au point d'une réaction sérologique de diagnostic du cancer. C'est sur cette dernière qu'a été fondée notre propre réaction de diagnostic de la syphilis. Aussi nous semble-t-il indispensable de rappeler, dans un premier chapitre, les considérations qui ont conduit Max Aron à des résultats d'où découlent les nôtres.

Nous aborderons ensuite l'étude de notre réaction. Nous verrons alors les raisons pour lesquelles nous avons entrepris cette recherche, la technique qui a été employée, les résultats pratiques qu'elle fournit ; puis nous essayerons de comprendre les mécanismes qui la commandent, et nous terminerons par la discussion de sa valeur théorique et pratique.

A) Bases théoriques

I. LA RÉACTION DU CANCER D'ARON

Les recherches de Max Aron que nous allons rapporter ont été dictées par l'hypothèse que les tumeurs malignes pouvaient être la source de substance toxiques, issues soit de la dégénérescence des cellules cancéreuses, soit du métabolisme de ces cellules, soit même d'éléments parasites éventuellement présents dans les cancers. En admettant

que de tels produits de désintégration y prissent effectivement naissance, ils devaient être excrétés par le rein et se retrouver dans l'urine.

Il s'agissait dès lors de découvrir un moyen qui permît de déceler la présence d'un tel principe dans l'urine.

Or on sait que le cortex de la glande surrénale est doué d'une grande sensibilité à l'égard de divers agents d'intoxication endogènes et exogènes.

L'auteur s'est donc adressé à cet organe pour tenter de mettre au point un test morphologique de l'action de ce principe hypothétique.

Puis, ayant pu démontrer l'existence d'un tel principe, ayant ensuite constaté que ce principe se comporte comme un antigène susceptible de déterminer la formation d'anticorps, il était amené en 1936, à mettre au point une méthode sérologique de diagnostic du cancer.

Nous exposerons donc, successivement :

1° Le test morphologique de la réaction du cortex surrénal à l'injection d'extrait d'urine de cancéreux.

2° La réaction sérologique du cancer.

1° Le Test morphologique cortico-surrénal.

Cette réaction est fondée sur la diminution des enclaves lipidiques de la cortico-surrénale du lapin sous l'influence de l'injection à cet animal d'urine de cancéreux.

Nous laisserons de côté ici, la relation des tâtonnements et essais multiples qui ont abouti à la méthode que nous allons exposer.

Elle offre à considérer :

Les réactifs mis en jeu,

Les réactions qu'ils provoquent.

a) Les réactifs.

Ils sont représentés, d'une part, par la cortico-surrénale, d'autre part, par l'urine de cancéreux.

1. — *La cortico-surrénale.*

On sait que le cortex surrénal est formé de dedans en dehors de trois couches qui sont : la zone réticulée, la zone fasciculée, la zone glomérulaire. La zone fasciculée, la plus étendue des trois, est formée dans les conditions physiologiques de cellules dont le cytoplasme est rempli

d'enclaves lipidiques. Dissoutes par les réactifs histologiques, ces dernières laissent le cytoplasme finement vacuolisé et lui confèrent un aspect clair et spongieux qui a valu à ces cellules le nom de « spongiocytes »..

Mais l'épaisseur du cortex surrénal et sa richesse en enclaves lipidiques est variable selon l'espèce animale à laquelle on s'adresse et, dans une même espèce, selon l'âge de l'animal, son poids, et diverses conditions physiologiques et pathologiques.

Aussi, après avoir rejeté le cobaye et le rat en raison de l'extrême variabilité de leurs surrénales, l'auteur s'est-il adressé à des lapins jeunes et bien nourris, de 1.500 à 2.000 gr. Néanmoins, des lapins de même poids peuvent posséder, l'un une surrénale volumineuse, riche en lipides, l'autre une surrénale hypoplasiée, à cortex étroit, à spongiocytes petits et pauvres en enclaves. Aussi les diverses expériences risquent-elles de ne pas être comparables entre elles.

Pour pallier à cet inconvénient, Max Aron mettait en œuvre, dès 1934, un perfectionnement technique consistant à prélever avant toute expérience, un fragment de la surrénale gauche.

Cette biopsie ne devait pas excéder plus du quart ou du tiers de la glande de manière à ne pas provoquer une hypertrophie compensatrice trop notable du parenchyme restant qui, déterminant un phénomène inverse de celui qui se produit dans la « réaction du cancer », eût pu masquer cette dernière. Dès lors, l'appréciation de la réaction éventuellement produite reposait sur la comparaison objective du fragment biopsié et des surrénales restantes.

2. *L'urine de cancéreux.*

Vingt-quatre à quarante-huit heures après la biopsie préalable, on injecte à l'animal, ainsi sélectionné et ainsi préparé, un extrait de l'urine à étudier. En effet, aux doses les plus élevées que l'on puisse administrer à un lapin — par exemple 50 à 60 cc., en 5 ou 6 injections sous-cutanées — l'urine injectée en nature ne produit de réaction que dans un faible pourcentage de cas de cancers. Aussi fallait-il obtenir un principe actif à des taux suffisamment élevés sans que l'on dût injecter à l'animal des quantités trop importantes de liquide. On pouvait songer à concentrer les urines. Mais celles-ci risquaient alors de devenir hypertoxiques. L'auteur s'est donc arrêté à la technique suivante : l'expérience montrant que le principe actif est présent dans le précipité formé par addition

à l'urine d'acétone ou d'alcool, on ajoute, à un volume donné d'urine, 3 volumes d'alcool à 95° ou d'acétone pur. Le précipité obtenu est décanté après sédimentation, puis centrifugé, et le culot de centrifugation est repris dans du sérum physiologique à raison de 5 cc. de sérum pour le précipité provenant de 100 cc. d'urine. Après avoir agité le mélange, on filtre, on utilise le filtrat pour les injections. On peut injecter ainsi des quantités d'extrait correspondant à 1.500-2.000 cc. d'urine. Pour les injections sous-cutanées, il suffit d'utiliser le filtrat préparé comme nous venons de l'indiquer, à raison de 15-20 cc. par injection jusqu'à épuisement de la dose totale à administrer. Lorsqu'on utilise la voie intrapéritonéale, qui donne des réactions plus intenses et, partant plus lisibles, on peut limiter le volume d'urine à précipiter à 1.000-1.200 cc. Mais il faut dessécher le culot de centrifugation du précipité dans le vide, afin d'éliminer toute trace d'alcool ou d'acétone, avant de le reprendre dans le sérum physiologique. Le filtrat est administré en plusieurs fois à raison de 5 cc. maximum par injection.

La voie intraveineuse qui nécessite de longues opérations de préparation du précipité urinaire n'est pas à recommander en raison de la forte mortalité qu'elle provoque.

b) La réaction.

On sacrifie l'animal 2-3 jours après la dernière injection. On prélève la surrénale droite et la partie restante de la surrénale gauche. La méthode en cause reposant sur la comparaison histologique entre l'état de l'organe avant l'injection et l'état de l'organe après l'injection, il est indispensable d'obtenir des préparations aussi identiques que possible en épaisseur et en coloration. Les pièces fixées au Muller-Formol, puis incluses à la paraffine, seront coupées à 5-6 μ selon un plan transversal perpendiculaire au grand axe de l'organe. Pour les colorer, on a recours à la méthode simple de l'hémalun-érythrosine qui fournit des images beaucoup plus lisibles que les techniques de détection des lipides après coupes à la congélation. Il est préférable de colorer, sur une même lame, la biopsie et les glandes enlevées à l'autopsie.

Dans ces conditions on observe, en cas de cancer, une réaction typique analogue à celle observée par Mlle Clevers et Goormaghtigh en 1922, à la suite de l'administration au lapin ou au cobaye de vaccin antivariolique ou

de toxine diphtérique. Dans les cas les plus accusés, sous l'influence de l'urine de cancéreux, les vacuoles lipidiques disparaissent, les spongiocytes diminuent de volume, et leur cytoplasme prend un aspect compact, dense, homogène et vivement colorable. Les contours des cellules s'estompent et deviennent irréguliers. « La différence entre la glande avant et la glande après traitement apparaît évidente, alors que dans la grande majorité des expériences menées à partir de sujets normaux ou de malades non cancéreux, les deux images se montrent sensiblement identiques. » Lorsque la réaction est plus discrète, les modifications ne portent plus que sur la zone superficielle de la fasciculée où les spongiocytes apparaissent plus affaissés, plus vivement colorables, et où la régularité des travées qu'ils composent est moindre que dans la biopsie. On conçoit aisément dès lors l'importance de cette dernière, une surrénale initialement pauvre en lipides pouvant, si l'on ne possède pas d'éléments de comparaison, en imposer pour l'expression d'une réaction faible. Quoi qu'il en soit, les résultats fournis par cette méthode devaient se montrer d'une remarquable constance.

Dans une statistique publiée en 1935 avec Stolz, Weiss et Kuntzmann, elle fournissait entre les mains de l'auteur environ 87 % de résultats exacts, tant pour les cancers que pour les cas non cancéreux. Les 13 % d'erreur ne plaidaient pas contre la spécificité de la réaction, mais étaient la conséquence d'une technique difficile qui pouvait, jusqu'à un certain point, entacher la valeur pratique de la réaction. Un an plus tard, Tagariello publiait dans la *Riforma Medica*, des résultats très encourageants obtenus par lui chez le cobaye par la même méthode. Et en 1938, Bulliard et Grundland confirmaient les résultats obtenus chez le lapin, tout en contestant l'interprétation donnée par M. Aron sur la nature du principe extrait de l'urine de cancéreux.

Il résultait donc de tous les faits rapportés que le milieu intérieur des cancéreux renferme une substance susceptible de produire une modification spécifique de la structure de la cortico-surrénale dans le sens d'une excrétion lipidique.

Or Mlle Clevers et Goormaghtigh, ainsi que d'autres auteurs, avaient émis l'hypothèse que la décharge lipidique de la cortico-surrénale, chez l'animal traité par la toxine diphtérique ou le vaccin antivariolique, pouvait être en rapport avec la création de l'état d'immunité et contribuer à la formation des anticorps. Dès le début de ses recherches, Max Aron s'était demandé si la même interpréta-

tion ne pouvait pas s'appliquer à ses constatations, et s'il n'observait pas dans la surrénale un des aspects d'un processus d'immunisation, autrement dit si la substance qu'il injectait ne se comportait pas chez l'animal comme un antigène, capable d'entraîner la formation d'anticorps.

Pour vérifier cette hypothèse, le sérum d'animaux — lapins ou moutons — qui avaient reçu de fortes doses d'extrait urinaire de malades atteints de cancer était injecté à des lapins encore indemnes de tout traitement. Chez ces animaux, l'injection quelques jours plus tard, dans les conditions habituelles, d'extrait urinaire de cancéreux, ne provoquait plus de réaction surrénalienne. Ainsi le principe contenu dans l'urine de cancéreux se comportait apparemment comme un antigène spécifique capable de provoquer dans le sang la genèse d'anticorps, puisque ceux-ci étaient à même d'empêcher l'effet de l'antigène de se manifester sur la cortico-surrénale de l'animal traité par le sérum qui les renfermait.

Il était permis, dès lors, de se demander si le sérum des malades atteints de tumeur maligne ne renfermerait pas également des anticorps, et s'il ne serait pas possible de prouver la validité de cette supposition par une réaction qui mettrait en présence l'antigène de l'urine et les anticorps présumés du sérum.

2° La réaction sérologique du cancer.

Or on sait que la mise en présence d'un antigène et des anticorps spécifiques qui lui correspondent est propre à déterminer une réaction d'opacification ou de floculation. La question se posait donc de savoir si l'addition, à une solution d'extrait urinaire de cancéreux, de sérum sanguin supposé contenir les anticorps déterminerait une telle réaction.

L'expérience a prouvé l'exactitude de cette hypothèse. Max Aron, dans une note à l'Académie des Sciences le 28 décembre 1936, montrait que lorsqu'on mélange en proportions convenables une solution titrée d'extrait d'urine de cancéreux et le sérum à étudier, il se produit, en cas de cancer, au bout de 24 heures — dont 18 heures d'étuve à 38° — soit un trouble intense, soit une fine floculation. En cas d'affection non cancéreuse, deux possibilités se présentaient : ou bien le mélange restait limpide, ou, dans un certain pourcentage de cas, on observait également une réaction d'opacification ou de floculation, mais plus discrète et plus tardive que celle donnée par les sérums cancéreux. Toutefois, on conçoit aisément que

l'existence de telles réactions eût plaidé contre la spécificité de la méthode et des principes qui y entrent en jeu, s'il n'avait été possible de les discriminer des réactions dues au sérum de cancéreux.

Il fallait donc démontrer le caractère non spécifique des réactions fournies par certains sérums de malades non cancéreux, et la dualité de nature des deux espèces de réactions observées. Or on arrive à réaliser cette discrimination. En effet, nous venons de dire que tous les sérums appartenant à des sujets indemnes de cancer ne donnent pas de floculation en présence de l'extrait d'urine de cancéreux. C'est donc que certains d'entre eux sont doués d'une sensibilité particulière à l'action d'une substance quelconque contenue dans l'extrait urinaire. Le problème consistait donc :

— soit à purifier l'extrait urinaire de manière à le débarrasser de cette substance ;

— soit à détruire dans l'extrait le principe antigénique, de façon à disposer d'expériences témoins où les sérums de cancéreux ne donnassent plus de réaction, tandis que ceux des sérums de malades non cancéreux qui réagissaient en présence du principe actif, continuassent à réagir après sa destruction. C'est cette seconde solution qui fut adoptée comme étant la plus facile à réaliser. La solution d'extrait urinaire après chauffage à 95° perd son activité antigénique par destruction du principe actif, thermolabile, qu'elle contient. En conséquence, l'examen de tout sérum devait comporter pour chaque tube à expérience un tube témoin où toutes choses étaient égales, sauf que l'extrait urinaire présent dans ce dernier avait été chauffé à 95° pendant 30 minutes.

Dans ces conditions, on devait noter pour les sérums de cancéreux une réaction plus ou moins fortement positive dans les tubes à expérience et nulle dans les tubes témoins. Pour les sérums de sujets non cancéreux, la réaction devait être, ou négative partout, ou positive dans les tubes témoins comme dans les tubes à expérience. Il en était bien ainsi dans la très grande majorité des cas. Cependant, il arrivait que certains sérums non spécifiques fournissent encore parfois une réaction légèrement plus forte dans les tubes à expérience que dans les tubes témoins, ou que, pour un cas donné, la correspondance entre ces tubes ne s'établît que pour des proportions différentes de sérum. D'un autre côté, le mélange du sérum sanguin de cancéreux et de la solution d'extrait urinaire chauffée à 95° donnait dans quelques cas des

réactions plus ou moins nettes au lieu de rester limpide. Il y avait donc là une cause d'hésitation qu'il fallait supprimer. A cette fin, deux perfectionnements furent successivement introduits dans la technique.

Tout d'abord, l'auteur avait observé que certains extraits urinaires subissent au chauffage un trouble ou une précipitation qui les rend impropres à l'usage, et qui résulte de la présence dans la solution soit d'albumine, soit de phosphates en excès.

L'albumine existe rarement à des taux qui la rendent génante et il est aisé d'éliminer, pour la préparation de l'extrait, les urines qui en contiennent. Par contre, les phosphates semblaient responsables de la plupart des insuccès constatés. On les élimina donc en les précipitant par l'ammoniaque.

Mais le progrès de loin le plus important fut réalisé par la connaissance de la propriété qu'ont certains sels métalliques de sensibiliser la réaction et surtout de rendre l'« antigène » thermostable. C'est cette notion qui se trouve à la base de la technique de séro-diagnostic du cancer, tel qu'il est pratiqué actuellement, et de notre réaction sérologique de diagnostic de la syphilis.

En effet, « l'adjonction de sulfate de cuivre à une solution à 2 ou 3 gr. pour cent d'un extrait alcoolique d'urine de cancéreux dans le sérum physiologique permet à cette solution, après chauffage à 95° pendant 30-45 minutes, de conserver son action antigénique à l'égard du sérum de cancéreux ». D'autres sels métalliques comme le sulfate ferrique, le cyanure de mercure, semblent doués, mais peut-être à un degré moindre, des mêmes propriétés.

Quoiqu'il en fût, différentes conséquences se dégageaient de cette nouvelle acquisition.

En premier lieu, elle expliquait la raison pourquoi certains sérums de cancéreux donnaient des réactions en présence de la solution d'extrait urinaire chauffée, où le principe actif eût dû être détruit. Il s'avérait, en effet, que l'erreur en cause résultait de la présence, dans le sérum physiologique servant à fabriquer la solution antigénique, de traces de sels métalliques susceptibles de stabiliser l'« antigène ». Ce qui conduisait à prescrire formellement l'emploi d'eau bidistillée dans des appareils en verre pour la fabrication des sérums physiologiques.

En second lieu, les réactions du cancer apparaissaient, grâce à ce procédé, sous la forme de floculations à grains très fins, beaucoup plus abondants qu'autrefois. D'où netteté plus grande des réactions, lectures plus faciles, diffé-

rence beaucoup plus accusée entre tubes à réaction et tubes témoins, et partant suppression de la cause d'erreur mentionnée plus haut.

En troisième lieu, le sulfate de cuivre ne stabilisait l'« antigène » à chaud que pour une concentration déterminée en ions H du milieu. Que l'on fût en délà ou en deça du pH optimum, on voyait les propriétés antigéniques de la solution diminuer, jusqu'à disparaître totalement. Le pH qui avait été primitivement fixé à 6,4 dut être ramené à 6-6,2. Enfin, il fallut également modifier les concentrations de la solution d'extrait urinaire, et du sérum sanguin qui lui était ajouté. L'activité de l'extrait urinaire employé semble fonction, s'il est préparé à partir d'un volume important d'urine provenant de nombreux malades, de la relation entre la quantité totale d'urine employée et le poids de la substance sèche qui en est extraite. Il faut donc procéder, pour chaque nouvel échantillon d'extrait d'urine de cancéreux, à une titration destinée à déterminer la proportion optimum de sérum sanguin à utiliser dans la réaction. Il apparut qu'ainsi les concentrations de sérum sanguin à mettre en jeu devaient être de l'ordre de 0,30 à 0,35 cc. pour 1 cc. de la solution d'extrait urinaire à 3 pour cent dans le sérum physiologique à 8 pour mille, au lieu de 0,7-0,8 cc. employés dans la technique de base. En outre, si, pour accroître l'intensité des floculations, on augmentait la concentration de l'extrait urinaire, il fallait inversement diminuer la quantité de sérum sanguin ajouté.

Dans ces conditions, la réaction du cancer était une réaction lente, et d'autant plus lente qu'on opérait avec des concentrations d'extrait urinaire plus élevées. A l'étuve à 37°, elle était souvent à peine amorcée au bout de 24 heures. A 45°, elle exigeait pour apparaître 16-18 heures, et s'accusait ensuite à la température ordinaire pour atteindre son maximum au bout de 36 heures. A 53°, elle s'accélerait notablement et se montrait déjà nette en 14-15 heures. Les résultats obtenus étaient d'une constance et d'une spécificité remarquables. Dès 1938, l'auteur, discutant la spécificité de sa méthode, évaluait à 93-94 %, les résultats exacts qu'elle devait pouvoir fournir dans des conditions optimum.

Cependant, pour essayer de réduire encore davantage la proportion des résultats inexacts, que le caractère délicat de la méthode et la difficulté des lectures eût certainement aggravée entre les mains de chercheurs insuffisamment entraînés, il tentait encore différentes retouches.

Nous avions remarqué plus haut qu'entre autres moyens d'éliminer les « fausses réactions », le premier qui venait à l'esprit était de purifier l'extrait d'urine de cancéreux, de manière à n'en conserver, autant que faire se pouvait, que le principe actif ou tout au moins à en éliminer le plus possible de « substances parasites ». L'expérience démontra que l'on peut, par des lavages successifs de l'extrait brut par l'alcool à 95° au 1/10e, obtenir un extrait notablement purifié et actif à des taux bien différents de ceux que l'on utilisait auparavant, puisqu'ils peuvent être abaissés à 10 cgr %. Mais alors les proportions de sulfate de cuivre à ajouter à la solution antigénique devaient être réduits à quelques γ par cc. et les quantités de sérum sanguin à employer comprises entre 1/100e et 6/100e de cc., le sérum ayant été préalablement dilué au quart dans le sérum physiologique.

D'un autre côté, l'observation prouvait que quelques-uns des échecs constatés étaient imputables à l'alexine du sérum. En effet, si l'on se sert pour la réaction de sérum frais, on s'aperçoit que les résultats obtenus sont inversés : les sérums de cancéreux ne donnent plus de floculation, tandis que les sérums provenant de sujets non cancéreux réagissent en présence de la solution d'extrait urinaire. Et il apparaissait que, si l'inactivation des sérums à 56° pendant 30 minutes peut suffire dans le plus grand nombre de cas, il se rencontre de temps à autre un sérum qui semble plus réfractaire que normalement au chauffage à 56° et fournit des résultats inexacts. Si on le soumet alors à une réinactivation de 30 minutes à une température de 2 à 3 degrés plus élevée, on supprime l'erreur dont il était l'objet. D'où la règle formelle de soumettre tout sérum à une inactivation préalable de 1 heure à 59°-60°.

Ainsi la méthode qui semblait, en 1939, avoir atteint théoriquement un degré de perfectionnement suffisant pour donner des résultats constants, pouvait se résumer de la façon suivante :

L'« antigène » est représenté par une solution d'extrait urinaire purifié à 1 cgr pour 100 cc. de sérum physiologique à 8 °/oo. On en fait deux parts égales : l'une des deux est additionnée de 2 γ de sulfate de cuivre par cc. à pH 6,2. L'autre est privée de sulfate de cuivre. La première représente la solution à expérience, la seconde la solution-témoin. Toutes deux sont portées au bain marie bouillant pendant 45'.

Le sérum inactivé pendant une heure à 60° est dilué au quart dans le sérum physiologique et réparti, à raison de 2/100°, 3/100°, 4/100° de cc. pour 1 cc. de solution antigénique, entre 3 tubes à réaction et 3 tubes témoins.

Les 6 tubes sont portés à l'étuve à 50° pendant 18 heures. Les lectures se font au bout de 24 heures après quelques minutes d'agitation.

En pratique, il allait s'avérer que la nécessité d'employer l'extrait purifié à un taux très faible comportait en soi un inconvénient sérieux : en effet, à ces concentrations, les substances non spécifiques disparaissent par le chauffage à 95° dans la solution témoin comme le fait le principe actif. Et les fausses réactions cessent de se manifester dans les tubes témoins, ce qui a pour résultat de supprimer les éléments indispensables de comparaison. En remplaçant, pour obtenir cette solution témoin, l'extrait sans cuivre chauffé par un extrait additionné de cuivre et non chauffé, on retrouve dans de meilleures conditions les résultats de la technique initiale : en cas de cancer, réactions fortement positives dans les tubes à réaction et faiblement positives dans les tubes témoins ; en cas d'affection non cancéreuse, soit négativité des tubes à réaction et des tubes témoins, soit réactions faiblement positives et identiques dans les uns et dans les autres. Enfin, récemment, la technique de la réaction du cancer faisait un nouveau progrès grâce à une modification portant sur le taux en ClNa de l'eau salée employé pour la dissolution de l'extrait urinaire. L'expérience montre qu'on sensibilise considérablement les réactions qui, d'autre part, augmentent d'intensité et de rapidité, en réduisant la concentration en sel de ce sérum, et que le titre optimum est représenté par celui d'une solution salée contenant 1 gr. de chlorure de sodium par litre d'eau bidistillée.

En définitive, le diagnostic sérologique du cancer s'opère actuellement de la façon suivante : une solution faiblement concentrée d'extrait urinaire de cancéreux dans le sérum salé à 1 pour mille est déphosphatée, ramenée à pH 6,6 à 6,8 par addition d'acide acétique, additionnée d'une quantité convenable de sulfate de cuivre et divisée en deux parts dont une seulement est portée au bain marie bouillant. L'autre, non chauffée, représente la solution témoin. Toutes deux sont réparties pour chaque cas dans trois tubes à raison de 1 cc. par tube, et additionnées de doses croissantes (de l'ordre de 1 à 4/100° de cc.) de sérum sanguin inactivé 1 heure à 60°. Les lectures se font après agitation des tubes au bout de 5 à 6 heures seulement d'étuve à 45°.

Notre propos n'est pas de discuter ici la valeur de cette réaction dont notre séro-diagnostic de la syphilis n'est qu'une application. Disons seulement qu'elle se montre d'une étonnante spécificité, et qu'elle fournit pour le cancer un pourcentage d'erreurs bien inférieur à celui que donne la réaction de Kahn dans la syphilis. Toujours est-il que le principe de la réaction du cancer semble avoir une valeur qui s'étend à des affections microbiennes et parasitaires. C'est ainsi qu'elle a été tentée dans la tuberculose comme nous allons le rappeler brièvement ci-après.

II. ESSAI DE RÉACTION SÉROLOGIQUE DE LA TUBERCULOSE

Pensant que l'élimination d'un « antigène » par le rein et l'existence de propriétés spécifiques du sang en cas de cancer pouvaient n'être que le cas particulier d'un phénomène plus général, l'auteur, en 1938, appliquait à la tuberculose une méthode identique à celle qui servait pour le cancer. Il préparait donc un extrait à partir d'urine émanant de sujets atteints de tuberculose pulmonaire évolutive. Cet extrait, en présence de sérum sanguin de tuberculeux, donnait des réactions de floculation qui ne se produisaient pas dans les tubes témoins. Les sérums de sujets non tuberculeux ne donnaient pas de réactions ou réagissaient identiquement à la fois dans les tubes à expérience et dans les tubes témoins.

Une statistique, portant sur 173 cas, avait fourni :

sur 84 cas tuberculeux avérés : 73 réactions positives,
sur 89 cas apparemment non tuberculeux, dont des cas de cancer, 81 réponses négatives.

Cette recherche n'a pas été poursuivie depuis lors, d'abord en raison de son intérêt pratique bien inférieur à celui de la réaction du cancer, ensuite en raison des difficultés d'interprétation qu'elle peut soulever : en effet, presque tous les individus sont, à un degré quelconque, tuberculisés à un moment donné de leur existence et généralement dans l'enfance.

A moins que l'on ne parvienne à déterminer une relation entre la nature, la localisation, le degré d'évolution des lésions tuberculeuses et la propriété qu'elles confèrent au sang — ce qui resterait à faire — on est en droit de penser que la réaction risque de se montrer positive dans des cas apparamment sains, cliniquement ou radiologiquement, sans qu'il soit possible de faire la part de l'erreur.

Quoi qu'il en soit, les indications fournies par cette recherche quant à l'existence, comme chez les cancéreux, d'une substance spécifique dans l'urine et d'anticorps dans le sang des tuberculeux, étaient suffisamment démonstratives pour que s'imposât à l'esprit l'idée d'étendre ces investigations à la recherche des propriétés spécifiques de l'urine et du sang des syphilitiques.

Nous avons supposé qu'en dehors des propriétés physico-chimiques particulières d'instabilité du sérum des syphilitiques, il pouvait exister dans ces sérums un anticorps spécifique auquel correspondrait une substance antigénique excrétée par le rein et que l'on pourrait mettre en évidence par une réaction calquée sur la « réaction du cancer ».

Pour ce faire, nous avons dans une première série d'expériences, en 1938, appliqué à la syphilis la technique utilisée alors pour la réaction du cancer. Puis nous avons repris ce travail en 1940 en y apportant divers perfectionnements. Tous les résultats sont venus prouver l'exactitude de notre hypothèse de base.

B) Technique du Séro-Diagnostic de la Syphilis

Nous envisagerons successivement :

la technique initiale ;

les modifications qui y ont été apportées.

I. PREMIÈRE TECHNIQUE

A) Étude de la méthode

L'étude de la méthode nous offre à considérer quatre temps :

Premier temps : La préparation de l'antigène.

Deuxième temps : Le mélange de la solution antigénique et du sérum à étudier.

Troisième temps : Le séjour à l'étuve des mélanges antigène-sérum.

Quatrième temps : La lecture des résultats.

1° Préparation de la solution « antigénique ».

L'« antigène » est préparé à partir d'urine de syphilitique, à quelque période que ce soit de la maladie, sous réserve que la sérologie des sujets auxquels on s'adresse soit fortement positive.

Les urines de 24 heures sont précipitées par l'alcool à 95° à raison de trois volumes d'alcool pour un volume d'urine. Il y a intérêt à additionner les urines d'alcool le plus tôt possible après leur émission afin d'éviter tout phénomène de fermentation. Les urines fortement albumineuses sont à rejeter.

On laisse le précipité se sédimenter dans des verres à pied, on décante le liquide surnageant, puis on centrifuge de manière à éliminer la plus grande partie du liquide qui l'imprègne encore. Le culot de centrifugation est alors desséché dans le vide. L'extrait sec obtenu est une masse blanc-jaunâtre, inodore, que l'on pulvérise finement dans un mortier. A condition que sa siccité soit parfaite il conserve indéfiniment son activité. Il y a donc intérêt à en préparer d'assez grandes quantités en partant d'un volume important d'urine de manière à constituer un extrait standard qui pourra servir à un nombre élevé d'expériences.

Au moment de l'emploi, on dissout une quantité convenable d'extrait dans du sérum physiologique. Le taux moyen optimum à employer est fixé par tâtonnement, à 2-3 gr. d'extrait sec pour 100 cc. de sérum physiologique. Mais il peut varier selon la qualité de l'extrait de + ou — 1 gr.

Le sérum physiologique employé est à 8 gr. de chlorure de sodium par litre d'eau bidistillée.

Après 15-20 minutes d'agitation, on filtre la solution. Un important résidu insoluble reste sur le filtre. Le filtrat, qui renferme la substance active, est additionné d'ammoniaque à raison d'une goutte environ pour 10 cc. de solution. Les phosphates précipitent ; on les élimine par filtration. Le filtrat doit être absolument limpide. Le pH est ramené à 5,8-6,0 par quelques gouttes d'acide acétique dilué.

L'indicateur utilisé est un mélange de bleu de bromothymol et de rouge de méthyle.

La solution est alors divisée en deux parts égales. Dans une des moitiés, on ajoute à la pipette le nombre de gouttes d'une solution de sulfate de cuivre à 0,5 %, nécessaires pour que 1 cc. de la solution d'antigène en renferme 40-45 γ. Par exemple, si 1 cc. de la solution cuivrique correspond à 20 gouttes, on versera dans 100 cc. de solution d'antigène 18 gouttes de la solution de sulfate de cuivre à 0,5 %.

Les deux lots d'extrait urinaire sont ensuite chauffés au bain-marie à 95° pendant 30-40 minutes. La substance active est détruite dans le lot sans cuivre qui sera distribué

dans les tubes témoins. L'autre, au contraire, renferme le principe actif sensibilisé par le cuivre à chaud. On s'assure que les solutions sont restées claires après le chauffage, et on les répartit, l'une et l'autre, à la pipette, dans des tubes de verre de 1 cm. de diamètre à raison de 1 cc. par tube. On dispose pour chaque expérience 3 tubes à réaction et 3 tubes témoins.

2° Mélange de la solution d'antigène et du sérum.

Le sérum sanguin est recueilli par centrifugation du sang coagulé prélevé aseptiquement et à jeûn. Il doit être absolument limpide, la lactescence et *a fortiori* une pollution troublant la réaction et gênant les lectures.

On l'inactive par chauffage au bain-marie, à 57°, pendant 20 minutes.

Il peut être alors conservé plusieurs mois à la glacière sans perdre son activité.

Pour chaque cas à étudier, on ajoute, dans les tubes témoins et dans les tubes à réaction, respectivement 0,15 cc., 0,20 cc., 0,25 cc. de sérum sanguin.

Ces proportions de sérum sont du reste variables avec la concentration de l' « antigène » employé. Pour un « antigène » donné elles sont déterminées par une titration préalable à l'aide d'un sérum de syphilitique avéré.

3° Séjour a l'étuve des mélanges antigène-sérum.

Après avoir homogénéisé les mélanges et bouché chaque tube par un bouchon de liège ou de caoutchouc, on porte les tubes à l'étuve à 45°.

La réaction de la syphilis, comme la réaction du cancer, est une réaction qui s'opère lentement. Elle s'amorce à cette température au bout de 14-15 heures. On sort alors les tubes de l'étuve et on laisse les réactions mûrir à la température ordinaire. La lecture se fait 24 heures après le début de l'expérience, mais il arrive qu'après ce délai, les réactions s'accusent encore.

4° Lecture des réactions.

En cas de syphilis, il se produit dans tous les tubes à réaction, ou dans l'un d'eux avec prédominance, une réaction de floculation. Le floculat tendant à se sédimenter, il faut agiter fortement les tubes avant la lecture, qui se fait à la lumière artificielle, devant une fente lumineuse et sur un fond noir. Les sérums de sujets non syphilitiques peuvent se comporter de deux manières :

Ou bien leur mélange avec la solution d'antigène demeure limpide dans les tubes à réaction et l'examen des tubes témoins est inutile. Ou bien il est le siège d'une floculation qui est en général plus discrète et plus tardive que les réactions spécifiques. Dans ce cas il se produit une réaction identique dans les tubes témoins correspondants. Quant aux tubes témoins, en cas de syphilis, leur contenu doit rester absolument limpide. Le diagnostic se fonde donc sur la confrontation des tubes témoins et des tubes à réaction.

B) Causes d'erreur de la première technique de séro-diagnostic de la syphilis.

Il s'est avéré, à l'expérience, que deux sortes de causes d'erreur pouvaient intervenir pour égarer le diagnostic. Les unes sont extrinsèques : elles sont liées au matériel utilisé pour les réactions.

Les autres sont intrinsèques, inhérentes aux réactions elles-mêmes, partant plus difficiles à éliminer.

1. — *Causes d'erreur extrinsèques.*

Leur connaissance a amené à proscrire de manière formelle l'emploi d'un matériel qui ne serait pas d'une propreté chimique et d'une asepsie absolue.

Nous avons vu, en étudiant la méthode de base de la réaction du cancer, que l'emploi d'eau distillée pour la préparation du sérum physiologique servant à faire la solution antigénique avait provoqué l'apparition de fausses réactions dans les tubes témoins en stabilisant à chaud, par les traces de sels métalliques qu'elle contenait, le principe actif qu'on pensait avoir détruit ; c'est donc de l'eau bidistillée qu'il convient d'utiliser dans tous les cas.

La propreté chimique est assurée de la façon suivante :

Les flacons bouchés à l'émeri, éprouvettes, entonnoirs, sont nettoyés à l'acide sulfochromique, puis à l'eau bidistillée.

Les pipettes, après séjour dans l'eau ordinaire, puis dans le mélange chromique, sont lavées par un courant d'eau bidistillée à la trompe.

Les tubes destinés à recevoir les mélanges antigène-sérum sont l'objet de soins particuliers : après séjour dans l'acide sulfochromique, ils sont rincés à l'eau ordinaire, puis soumis, pendant 5 minutes chacun, à l'action de la vapeur d'eau bouillante. Le dispositif employé pour ce

nettoyage est réalisé par un ballon où l'eau bout, fermé par un bouchon à deux trous. De ce bouchon émergent deux tubulures coudées en baïonnette d'où s'échappe la vapeur. Chaque tubulure est coiffée d'un tube qui restera ainsi balayé le temps voulu par un courant continu de vapeur d'eau. La propreté bactériologique et le séchage du matériel sont assurés par un séjour d'une demi-heure au four à 160°.

La méconnaissance de ces précautions est susceptible de déterminer l'apparition de pollutions et de fausses réactions.

2. — *Causes d'erreur intrinsèques.*

Lorsqu'une réaction nette s'opère dans les tubes à expérience, alors que les tubes témoins restent limpides, ou inversement lorsque les tubes à expérience demeurent limpides, le diagnostic n'offre pas de difficulté. Mais il n'en est pas toujours ainsi. On observe, de temps à autre, des cas où tubes témoins et tubes à expérience ont réagi, mais où cette réaction ne présente pas la similitude d'intensité qui permet de conclure sans hésitation à l'absence de syphilis. De tels cas doivent être évidemment considérés comme douteux et recommencés. Mais on conçoit que l'exagération de ce phénomène puisse conduire à des diagnostics erronés de syphilis. Or, il semble qu'on doive attribuer de telles erreurs à la différence créée entre la solution antigénique active et la solution témoin au cours des manipulations qu'on leur fait subir. En effet, on compte obtenir au terme de leur préparation :

1° Une solution-expérience contenant, à côté du principe actif sensibilisé par le cuivre à chaud, des substances non spécifiques thermostables.

2° Une solution-témoin ne contenant que ces substances non spécifiques, le principe actif ayant été détruit par la chaleur.

Or, il s'avère en fait que la solution témoin diffère de celle destinée aux tubes à réaction, non seulement par l'absence de principe actif, mais encore par la disparition plus ou moins complète des substances non spécifiques, responsables des fausses réactions sur lesquelles on doit fonder le diagnostic de négativité lorsque l'examen porte sur un sérum non syphilitique.

II. DEUXIÈME TECHNIQUE

La deuxième technique que nous employons actuellement tient compte de ces faits. Elle réalise au maximum l'identité des conditions dans les deux solutions. Elle est basée sur le principe suivant : on sait que l' « antigène » non chauffé, qu'il soit ou non additionné d'un sel métallique sensibilisateur, possède aux faibles concentrations une activité à peu près nulle par rapport à celle de l' « antigène » de même concentration chauffé en présence de ce sel. On peut donc essayer de réaliser une solution témoin en partant de la solution-mère non chauffée.

La méthode tient en outre compte des données récentes rapportées plus haut, concernant l'influence du taux en ClNa de l'eau salée employée sur la sensibilité de la réaction, et particulièrement sur les quantités d'extrait urinaire à mettre en solution.

On peut, ici encore, y distinguer quatre temps.

1° Préparation de l' « antigène ».

Une première différence intervient dans le mode de préparation de l'extrait d'urine de syphilitique. Au lieu de traiter l' « extrait brut », (obtenu par précipation d'un volume d'urine par trois volumes d'alcool), par des alcools dilués (au 1/10° ou au 1/15°) pour en retirer un « extrait purifié », on précipite d'emblée un volume donné d'urines, choisies chez des syphilitiques à sérologie positive, par un volume égal d'alcool à 95°. On récupère ainsi immédiatement un extrait urinaire suffisamment pur. On l'utilise à des concentrations très fortement réduites par rapport à celles employées dans la première méthode. Elles varient, selon les échantillons d'extrait urinaire, de 1 à 3 cgr. de cet extrait pour cent cc. de sérum salé (à 1 gr. de ClNa par litre d'eau bidistillée).

Comme autrefois on agite le mélange pendant 10-15 minutes, on le filtre, on précipite les phosphates par l'ammoniaque et on les élimine par filtration.

Là interviennent deux autres modifications :

Tout d'abord, la zone de pH optimum qui doit être réalisée pour permettre la combinaison antigène-cuivre semble moins étroite que dans l'ancienne méthode. Elle se rapproche aussi davantage de la neutralité et apparaît comme comprise entre 6,8 et 7.2. Ensuite les doses de sulfate de cuivre à ajouter sont réduites à 4-6 γ par cc.

On ramène donc le pH au degré voulu par l'acide

acétique et on ajoute à la solution-mère la quantité indiquée de sulfate de cuivre en solution à 0,5 gr. % selon le procédé déjà relaté.

On partage alors la solution-mère en deux moitiés.

L'une sera répartie telle quelle à raison de 1 cc. par tube entre les tubes-témoins.

L'autre est soumise au chauffage à 95° au bain-marie pendant 30 minutes. Elle sera répartie dans les mêmes proportions entre les tubes à réaction.

2° Mélange antigène-sérum.

On dispose pour chaque examen 3 tubes à expérience et 3 tubes témoins auxquels on ajoute 1/100e, 2/100e, 3/100e de cc. de sérum préalablement inactivé 1 heure à 58-60°. Nous avons déjà souligné l'importance d'une inactivation insuffisamment poussée sur l'apparition des fausses réactions.

3° Séjour a l'étuve.

Les mélanges une fois homogénéisés par une rapide agitation, sont portés à l'étuve à 45°. La réaction étant 2-3 fois plus rapide que dans l'ancienne méthode, il suffit de les y laisser séjourner 5-6 heures.

4° Lecture des résultats.

Au sortir de l'étuve, la floculation n'est pas encore visible. On soumet les tubes à une agitation de 2-3 minutes qui détermine l'apparition de granulations dont on peut suivre en quelques instants la maturation progressive.

Dans ces conditions, le floculat obtenu est comparable à celui de la réaction de Kahn.

En cas de syphilis, la réaction s'opère dans les tubes à expérience avec une intensité généralement décroissante du premier au troisième tube.

L'antigène n'étant pas détruit dans la solution-témoin, il s'y fait également une réaction, mais nettement moins forte que dans les tubes à réaction.

Il est à noter que la différence qu'on observe avec les sérums spécifiques entre les tubes témoins et les tubes à réaction, dans la réaction de la syphilis, est moins grande que celle qui apparaît avec les sérums de cancéreux dans la réaction du cancer. Par contre, les réactions de la syphilis sont, en général, plus intenses que les réac-

tions du cancer. Nous essayerons, plus loin, de trouver une explication à cette dissemblance intervenant entre deux réactions par ailleurs rigoureusement identiques.

En revanche, en cas d'affection non syphilitique, ou bien les tubes à expérience demeurent limpides, ou bien ils sont le siège d'une réaction plus ou moins marquée, toujours plus faible que les réactions de la syphilis, mais rigoureusement superposable à celle qui se manifeste dans les tubes témoins correspondants. Par exemple, pour une floculation dans les tubes-réaction du type :

1er *tube*	2e *tube*	3e *tube*
+ (+) (réaction d'intensité moyenne).	+	(+)

on aurait dans les tubes témoins :

1er *tube*	2e *tube*	3e *tube*
+ (+)	+	(+)

tandis qu'en cas de syphilis, on obtiendrait :

Tubes à réaction	+++	++	+
Tubes-témoins	+	(+)	(—)

C) **Résultats du séro-diagnostic de la syphilis**

Compte tenu de la nécessité de n'utiliser qu'un matériel d'une propreté chimique et bactériologique rigoureuse, et de l'inutilité qu'il y a à boucher les tubes servant aux expériences, il semble que l'on soit en possession d'une technique sûre, d'une méthode sensible, donnant un minimum d'erreur.

Dans une statistique publiée en 1938, nous apportions les résultats de 119 expériences, faites selon la première technique. Nous avions alors relevé 6,7 % d'erreurs.

Sur 82 sérums prélevés chez des sujets indemnes de syphilis, 2 avaient fourni des résultats douteux, 8 des résultats positifs, 72 des résultats exacts, 24 sérums appartenaient à des malades atteints de cancer : aucun de ces derniers n'avait donné une réponse erronée.

Inversement, sur 37 sérums de syphilitiques à tous les stades de la maladie, nous avions obtenu 37 réponses exactes, positives. Il est intéressant de noter que trois de ces sérums appartenaient à des malades atteints de syphilis primaire, à la période dite préhumorale, et que quatre

autres provenaient de sujets atteints de syphilis négative aux réactions de Kahn, Vernes, Hecht et Calmette-Massol. L'un d'eux, que nous avons pu suivre, devait devenir à nouveau positif à ces réactions quelques mois plus tard.

Nous ne sommes pas actuellement en mesure d'apporter des résultats aussi précis pour la deuxième technique. En effet, nous n'avons cessé, depuis la reprise de cette recherche, d'essayer d'améliorer la réaction et de fixer avec le maximum de précision ses conditions en en faisant varier, un à un, les facteurs. Aussi, n'avons-nous pas eu encore le loisir d'éprouver un nombre très élevé de cas. Quoi qu'il en soit, nous sommes en mesure d'affirmer que jamais une syphilis ne nous a fourni une réponse négative et qu'il nous a été donné à nouveau de vérifier la sensibilité de la réaction chez quelques syphilitiques négativés par le traitement pour les réactions de Hecht, Kahn et Bordet-Wassermann.

Mais il ne nous a pas été possible, faute de cas appropriés, de renouveler l'observation de réactions positives, chez des syphilitiques à la période préhumorale de leur affection. Jamais, ici encore, un sérum de cancéreux n'a été l'objet d'une erreur. Toutefois, deux sérums provenant de sujets non syphilitiques nous ont donné des réponses erronées.

Ces deux cas, du reste, ne plaident pas contre la spécificité de la réaction. Ils sont la conséquence des multiples difficultés que comporte l'application d'une technique délicate.

Mais, pourrait-on nous objecter, cette réaction n'exprimerait-elle pas une fois de plus l'instabilité du sérum syphilitique en présence d'un antigène quelconque, en l'occurrence représenté par des substances non spécifiques contenues dans l'extrait urinaire, et les erreurs constatées ne seraient-elles pas du même ordre que celles qui entachent les autres réactions de la syphilis, le Meinicke par exemple ?

Différents arguments tirés de l'étude du mécanisme de la réaction plaident contre cette manière de voir. Nous nous proposons donc, dans les pages qui vont suivre, d'essayer d'en démontrer le caractère de spécificité réelle.

D) Nature et mécanisme de la réaction

Nous avons postulé, à l'origine de ce travail, que l'extrait urinaire de syphilitique renfermait, par analogie avec l'extrait urinaire de cancéreux et l'extrait urinaire de tuberculeux, une substance spécifique douée de propriétés antigéniques qui s'exprimeraient, dans une réaction sérologique, par l'apparition d'une floculation, en présence des anticorps correspondants supposés contenus dans le sérum de syphilitique. S'il en était bien ainsi, seul ce sérum devait réagir en présence de l'extrait urinaire en question. Et en revanche, le mélange de sérum de syphilitique avec un antigène non spécifique ne devait pas provoquer de floculation. L'expérience, nous l'avons déjà vu, a démontré l'exactitude de ces deux propositions. Mais en même temps, elle faisait surgir une inquiétante difficulté : certains sérums, non syphilitiques, donnaient, en présence de l'« antigène » spécifique, une réaction semblable à celle fournie dans tous les cas par le sérum de syphilitique. Une première question se posait donc :

Y a-t-il une différence entre les réactions constatées en cas de syphilis et la floculation de certains sérums non spécifiques ?

Pour y répondre, nous envisagerons successivement l'action de la chaleur, du sulfate de cuivre et du pH, du sérum physiologique, sur l'antigène.

1° Action de la chaleur.

Lorsqu'on soumet l'extrait d'urine de syphilitique à un chauffage au bain-marie à 95°, on supprime les réactions de la syphilis, tandis que les autres floculations sont conservées, en tout ou partie. On réaliserait donc par ce moyen une première discrimination entre les différentes réactions, les unes spécifiques dues à une substance X thermolabile, les autres non spécifiques, dues à des réagines quelconques thermostables. Cette différence existe bien, mais elle n'est pas aussi absolue qu'on le pensait. En effet, si au lieu de soumettre au chauffage des quantités d'« antigène » de l'ordre de 2-3 gr., on place au bain-marie bouillant une solution d'extrait urinaire à 1 ou 2 cgr. %, toutes les réactions disparaissent, aussi bien les floculations non spécifiques, que les floculations spécifiques. Il faut donc en conclure que les substances non spécifiques ne sont pas thermostables, comme on le croyait, mais que leur destruction, par la chaleur, est

beaucoup moins rapide ou complète que celle de la substance spécifique.

Aussi, lorsqu'on emploie pour la réaction un extrait concentré, la chaleur détruit rapidement le principe actif, mais ne détruit pas la totalité des substances parasites, d'où persistance des réactions sosies dans la solution témoin.

Mais si on utilise un extrait dilué, on réduit de telle sorte la proportion des principes non spécifiques, qu'ils peuvent être détruits entièrement au bout de 20 minutes de chauffage à 95°.

On pourrait éventuellement rechercher sur ces préparations diluées le temps minimum ou le degré de chauffage qui assurerait la destruction du principe actif, tout en conservant les substances responsables des fausses réactions. C'est là un point que nous n'avons pas encore éclairci.

2° Action du sulfate de cuivre.

L'adjonction de sulfate de cuivre à la solution d'extrait alcoolique d'urine de syphilitique permet à cette solution de conserver son activité antigénique, après 30-45 minutes de chauffage à 95°.

L'interprétation la plus plausible du mécanisme de cette action est celle de la formation d'un complexe ou d'une combinaison thermostable antigène-métal. Nous pensions jusqu'à ces derniers temps, que le sulfate de cuivre restait sans effet sur le comportement des substances non spécifiques de l'extrait urinaire. Certaines constatations nous obligent à réviser cette conception. Il semble, en effet, que le sulfate de cuivre entre en combinaison avec ces principes qui, s'il n'en était pas ainsi, devraient être détruits par la chaleur lors du séjour des solutions cuivriques d'antigène faiblement concentré au bain-marie bouillant.

Or, après chauffage, ces solutions continuent à donner des fausses réactions.

Mais la combinaison doit se faire déjà à froid et n'être que peu ou pas accrue par le chauffage, alors que le principe actif au contraire est peu sensibilisé par le sulfate de cuivre à froid, tandis que le métal à chaud lui confère une grande activité antigénique. C'est la seule explication plausible des différences qui apparaissent dans la deuxième technique, d'une part entre les réactions-vraies et les réactions sosies, d'autre part pour chacune d'elles entre les réactions-expériences et les réactions-témoins.

On se souvient, en effet, qu'on observe :

En cas de syphilis, des réactions fortes dans les tubes à expérience et des réactions beaucoup plus faibles dans les tubes-témoins ;

En cas d'affection non syphilitique, des réactions beaucoup plus faibles que les réactions de la syphilis, et aussi marquées dans les tubes-témoins que dans les tubes à expérience.

3° Action du sérum physiologique.

Parmi les substances albuminoïdes du sérum sanguin, les globulines semblent jouer un rôle encore mal défini, dans les phénomènes d'immunités, ou qu'elles supportent les anticorps, ou que les anticorps soient constitués par des modifications quantitatives ou qualitatives des globulines.

Or ces globulines sont insolubles dans l'eau distillée, solubles dans les solutions de chlorure de sodium à dix pour mille, insolubles dans un excès de ce sel, par suite très sensibles à la variation de la teneur en chlorure de sodium du milieu qui les contient.

Klausner avait remarqué la différence de stabilité des différents sérums vis-à-vis de l'eau distillée qui amène une diminution dans la concentration saline.

Meinicke également a relevé l'importance du rôle du chlorure de sodium dans la précipitation du sérum de syphilitique avec les extraits d'organe. Sa première technique, dans laquelle la floculation du sérum était obtenue par une dilution d'extrait d'organe avec de l'eau distillée, avait été, nous l'avons vu, rapidement remplacée par une méthode où l'auteur faisait intervenir des solutions de chlorure de sodium de concentration variant de 14 à 24 gr. pour mille.

Dans notre cas, la solution d'extrait d'urine de syphilitique dans l'eau distillée ne donne aucun résultat. Au moyen de la solution physiologique à 8-9 pour mille, les réactions s'opèrent, mais avec une extrême lenteur. Au contraire, l'utilisation d'une solution salée à 1 pour mille permet d'obtenir des réactions en 5 à 6 heures d'étuve.

Et, fait intéressant, au bout de ce laps de temps, les réactions-sosies sont insignifiantes, alors que les réactions spécifiques sont parfaitement lisibles. Il y a donc là une nouvelle différence, mise en évidence par la concentration saline du solvant employé, entre l'action des substances non spécifiques et celle du principe actif de l'extrait sur les sérums sanguins.

Ainsi l'existence dans l'extrait urinaire de deux propriétés très différentes apparaît de façon certaine :

L'une n'est apparemment douée d'aucune spécificité et s'adresse à certains sérums seulement. Sur sa nature, on ne peut émettre que des hypothèses. On pourrait supposer qu'elle est supportée par des substances quelconques de l'urine agissant sur les albuminoïdes du sérum. Mais le fait qu'elle ne se manifeste pas avec tous les sérums non syphilitiques, que par ses réactions aux effets de la chaleur, du sulfate de cuivre, du ClNa elle fasse figure de parente lointaine de la réagine spécifique, donne à penser qu'elle pourrait être aussi supportée par une substance ou un groupe de substances antigéniques appartenant à quelqu'une des multiples infections ou intoxications endogènes ou exogènes qui atteignent à tout moment les organismes humains.

Mais, nous tenons à le répéter, nous ne faisons qu'émettre là une supposition qui ne repose jusqu'à présent sur aucune expérimentation directe propre à l'étayer.

Quant à l'autre propriété, elle est spécifique et ne s'adresse qu'au sérum syphilitique. Mais est-elle dévolue à un antigène au sens strict du terme, c'est-à-dire à un facteur ayant déterminé la formation d'anticorps dans l'organisme dont il provient, ou susceptible de provoquer la formation d'anticorps spécifiques dans un organisme sain ; ou bien n'y a-t-il là qu'une substance quelconque, agissant seulement sur l'instabilité du sérum syphilitique à la manière des lipoïdes des extraits d'organes dans les autres réactions de la syphilis ?

Telle est la seconde question que nous nous poserons. *Y a-t-il bien dans l'extrait urinaire de syphilitique un antigène spécifique* ?

L'expérience qui trancherait le problème consisterait à injecter de l'extrait urinaire de syphilitique à des lapins par exemple, et à chercher si ce traitement atténuerait ou annihilerait l'infection syphilitique expérimentale ensuite réalisée chez ces animaux. Faute de matériel, nous n'avons pu encore l'entreprendre.

Le seul argument que nous possédions donc actuellement, mais il est de valeur, nous est fourni par le comportement des sérums de syphilitiques, en présence d'un extrait urinaire n'émanant pas de syphilitiques, en l'espèce d'extrait d'urine de cancéreux. Si la réaction que nous observons était le résultat de l'action sur le sérum de syphilitique d'une substance non spécifique de l'urine, toutes les urines, quelles qu'elles soient et d'où qu'elles proviennent, devraient provoquer la floculation de ce sérum. Or dans

ce cas, nous l'avons déjà dit, jamais le mélange ne détermine de réactions vraies. Tout au plus, observe-t-on des fausses réactions plus fréquentes qu'avec les sérums provenant de sujets indemnes de syphilis et non cancéreux. Que ce phénomène soit lié à l'instabilité particulière du sérum syphilitique, la chose est parfaitement admissible. De même, nous admettons volontiers que les réactions de la syphilis puissent être la somme de deux réactions de nature différente : l'une principale, résultant de la combinaison antigène-anticorps, l'autre secondaire, conséquence des propriétés physico-chimiques, propres au sérum syphilitique. Cette sommation rendrait du reste compte du fait que, toutes choses égales par ailleurs, les réactions de la syphilis sont toujours plus intenses que les réactions du cancer. Peut-être s'y ajouterait-il encore une troisième réaction, non spécifique, du type réaction-sosie banale.

On voit quelle complexité présente le problème. Pour essayer de le simplifier dans une certaine mesure et d'y apporter quelques éclaircissements nouveaux, nous avons entrepris récemment une série d'essais dont les premiers résultats se sont montrés encourageants. Nous avons supposé que le principe actif, comme beaucoup d'antigènes, pouvait être un lipo-protéide, et pour le vérifier, nous avons traité l'extrait urinaire brut, (obtenu par précipitation d'urine de syphilitique par l'alcool à 95° à raison d'un volume d'alcool pour un volume d'urine), par un mélange d'alcool-éther à 15 cc. d'alcool pour 100 cc. d'éther.

Après élimination par centrifugation, puis filtration, de la fraction insoluble dans l'alcool-éther, nous avons évaporé le mélange dans le vide. Nous avons recueilli ainsi un demi-gr. (représentant le 12e de l'extrait initial) d'une substance de consistance grasse, d'odeur un peu caramélisée, et se déposant en pinceaux de longues et fines aiguilles brunâtres. Cette substance s'est montrée active à des taux extrêmement faibles, de l'ordre du mgr., alors que le résidu insoluble de l'extraction éthéro-alcoolique était devenu complètement inactif.

On conçoit l'importance que pourrait prendre une telle notion, si ces premiers résultats se confirmaient et s'il s'avérait que le principe actif est bien un lipo-protéide, pour expliquer le mécanisme d'action des extraits lipoïdiques d'organes dans la réaction de Wassermann et ses dérivées. Elle fournirait un argument de plus à la théorie de l'immunité de Sachs, et expliquerait pourquoi, parmi toutes les substances organiques qui pourraient agir sur l'équilibre des sérums syphilitiques, ce sont justement les lipoïdes auxquels sont dévolues des propriétés antigéniques.

VALEUR PRATIQUE ET THÉORIQUE

DE LA RÉACTION

Dans nos précédentes publications sur la réaction sérologique de la syphilis, nous nous étions montré affirmatif quant à la valeur théorique de la méthode, réservé quant à son application pratique.

Aujourd'hui, plus que jamais, nous sommes décidé à ne pas nous départir de cette attitude. Plus que jamais, nous admettons qu'elle démontre l'existence dans l'urine et dans le sang des syphilitiques de propriétés spécifiques interprétables par la présence d'un antigène dans l'urine, d'anticorps dans le sang ; qui plus est le rapprochement de nos résultats de ceux obtenus antérieurement grâce à la même méthode par Max Aron dans le cancer et la tuberculose donne fortement à penser que ces différentes réactions ne sont que l'expression d'un phénomène d'ordre général dans le cadre duquel des recherches à venir pourraient faire rentrer la plupart des maladies infectieuses ou microbiennes, chaque affection en définitive étant caractérisée par la présence chez le malade d'un antigène déterminant la formation d'anticorps dans l'organisme avant que d'être éliminé par l'émonctoire rénal.

En revanche, on ne saurait se montrer trop réservé ni trop prudent sur le chapitre de l'avenir pratique de cette réaction. Il n'échappera à personne la supériorité que détiendrait une réaction spécifique, du jour où elle pourrait rentrer dans la pratique courante. Mais il ne s'agit pour l'instant que d'une technique extrêmement délicate, très sensible aux moindres fluctuations des conditions expérimentales. Quoique les résultats que nous avons rapportés se soient montrés des plus encourageants, leur nombre est encore insuffisant pour conduire à une conclusion définitive. En outre, certaines lectures présentent encore des difficultés d'interprétation qui peuvent

égarer un observateur non exercé. Aussi serait-il très prématuré d'essayer d'attribuer à cette réaction une valeur pratique absolue aussi bien que relative. L'auteur est le premier à reconnaître qu'elle est encore loin d'être parvenue au point de maturité qui autoriserait une comparaison avec les autres réactions sérologiques de diagnostic de la syphilis. Toutefois, ses essais des dernières semaines l'autorisent à formuler un espoir : celui de parvenir, par l'élimination des réactions-sosies, à une méthode simple et sûre, et de technique, et d'interprétation.

Encore faudra-t-il alors, pour en juger en dernier ressort, la confirmation apportée par des milliers d'expériences et par de nombreux sérologistes.

CONCLUSIONS

1° Nous avons apporté dans ce travail les bases d'une nouvelle méthode de séro-diagnostic de la syphilis.

2° Cette méthode repose sur l'existence de propriétés spécifiques de l'urine et du sang des sujets atteints de syphilis, propriétés que l'on peut interpréter comme en rapport avec la présence d'un antigène dans l'urine et d'anticorps spécifiques dans le sang.

3° Nous avons exposé les conditions techniques de la méthode.

4° Sa valeur pratique et sa signification théorique ont été discutées.

BIBLIOGRAPHIE

M. Aron : Présence dans l'urine des sujets atteints de tumeur maligne d'un principe doué d'une action sur la cortico-surrénale. *C.R. des séances de l'Académie des Sciences.* Tome 197, p. 1702, 18 décembre 1933.

M. Aron : Essai d'une méthode histologique de diagnostic du cancer. Essai d'interprétation. *C.R. des séances de la Soc. de Biol.*, 12 janvier 1934. Tome 115, p. 403.

M. Aron : Présence d'un principe spécifique dans l'urine des individus atteints de cancer. Application à un procédé de diagnostic du cancer et essai d'interprétation de la nature de ce principe. *Presse Médicale*, n° 41 du 23 mai 1934.

M. Aron : Technique pour la mise en évidence d'un principe spécifique dans l'urine des cancéreux. Résultats statistiques. Signification théorique et pratique de la réaction du cancer. *Bulletin de l'Association française pour l'étude du cancer.* Tome 23, n° 5, juin 1934.

M. Aron : Une nouvelle réaction du cancer. *Apartado de la Revista de la Societad Argentina de Biologia.* Supplémento del vol. X. Nov. 1934.

M. Aron : Nouveaux procédés techniques pour la mise en évidence dans l'urine des cancéreux d'un principe actif sur le cortex surrénal. *C.R. des séances de la Soc. de Biol*, 14 décembre 1934. Tome 118, p. 85.

M. Aron : Présence dans l'urine des cancéreux de taux élevé d'une gonadostimuline et mise en évidence de ce principe. *C.R. des séances de la Soc. de Biol.*, 14 décembre 1934. Tome 118, p. 88.

A. Stolz, M. Aron, A.-G. Weiss et J. Kuntzmann : Epreuve statistique de la « Réaction du Cancer » d'Aron. *Presse Médicale*, n° 28 du 4 avril 1935.

M. Aron : Modification du cortex surrénal et de l'ovaire du lapin sous l'influence des principes renfermés dans l'urine des cancéreux. *C.R. de l'Association des anatomistes*, Montpellier, 15-17 avril 1935.

M. Aron : Action d'extraits urinaires sur les surrénales et sur l'ovaire du lapin. Son application au diagnostic du cancer. *Presse Médicale*, n° 52, 29 juin 1935.

A. Stolz, M. Aron, A.-G. Weiss et J. Kuntzmann : Recherches sur la valeur théorique et pratique de la « Réaction du Cancer » d'Aron. Présentation faite par M. Béclère. *Bull. de l'Académie de Médecine*, 14 janvier 1936. Tome 115, n° 2, p. 122.

M. Aron : Discrimination du principe de l'urine de cancéreux actif sur le cortex surrénal chez le lapin, et du principe actif sur l'ovaire. *C.R. des séances de la Soc. de Biol.*, 14 février 1936. Tome 211, p. 973.

M. Aron : Etude comparative des diverses modalités techniques de la « Réaction du Cancer » chez le lapin. *C.R. des séances de la Soc. de Biol.*, 10 juillet 1936. Tome 123, p. 246.

Tagariello : *La Riforma Médica*, 1936, n° 8.

M. Aron : La « Réaction du Cancer » chez le cobaye. *C.R. des séances de la Soc. de Biol.*, 10 juillet 1936. Tome 123, p. 248.

M. Aron : Recherches sérologiques sur la nature du principe contenu dans l'urine de cancéreux. *C.R. des séances de l'Académie des Sciences*, 28 décembre 1936. Tome 203, p. 1550.

M. Aron : Application sérologique des données de l'histologie expérimentale sur l'existence d'un principe spécifique dans l'urine des cancéreux. *C.R. des séances de la Soc. de Biol.*, 15 janvier 1937. Tome 124, p. 370.

M. Aron : Diagnostic biologique du cancer du col. Rapport présenté au 6e Congrès français de gynécologie. Toulouse, mai 1937.

M. Aron : Sur le mode de préparation et l'utilisation des extraits urinaires destinés à la réaction du cancer. *C.R. des séances de la Soc. de Biol.*, 9 juillet 1937. Tome 126, p. 470.

M. Aron : Méthode sérologique pour la mise en évidence de propriétés spécifiques de l'urine et du sang des cancéreux. *Presse Médicale*, nº 80 du 6 octobre 1937.

M. Aron : Action de certains sels métalliques sur le principe actif de l'urine des cancéreux. Application sérologique. *C.R. des séances de la Soc. de Biol.*, 14 janvier 1938. Tome 127, p. 442.

M. Aron : Recherches sur l'existence de propriétés spécifiques de l'urine et du sang des tuberculeux. *C.R. des séances de l'Académie des Sc.*, 21 mars 1938. Tome 206, p. 956.

M. Aron : Conditions physico-chimiques de la réaction sérologique du cancer. Rôle des concentrations, du pH, de la température. *C.R. des séances de la Soc. de Biol.*, 8 avril 1938. Tome 128, p. 91.

M. Aron : Degré de spécificité de la réaction sérologique du cancer. *C.R. des séances de la Soc. de Biol.*, 8 avril 1938. Tome 128, p. 93.

H. Bulliard et I. Grundland : Rôle des polypeptides dans la « Réaction du Cancer » d'Aron *C.R. des séances de la Soc. de Biol.*, 21 mai 1938. Tome 128, p. 298.

I. Grundland et H. Bulliard : Le comportement du complexe lipoprotéique surrénalien dans la réaction du cancer. Comparaison d'examens histologiques et dosages des graisses de la surrénale. *C.R. des séances de la Soc. de Biol.* 21 mai 1938. Tome 128, p. 302.

I. Grundland et H. Bulliard : Polypeptides et réaction sérologique du cancer. *C.R. des séances de la Société de Biol.*, 1938. Tome 128, p. 999.

R. Aron : Mise en évidence par une réaction sérologique de propriétés spécifiques de l'urine et du sérum chez les syphilitiques. *C.R. des séances de la Soc. de Biol.*, 8 juillet 1938. Tome 129, p. 227.

M. Aron : Similitude de l'existence de propriétés spécifiques de l'urine et du sang démontrables par la même méthode sérologique chez les cancéreux, les tuberculeux et les syphilitiques. *C.R. des séances de la Soc. de Biol.*, 8 juillet 1938. Tome 129, p. 229.

M. Aron : Recherche sur l'existence de propriétés spécifiques de l'urine et du sang de cancéreux. *Bull. des Biologistes pharmaciens.* Année 1938, nº 40, 1er trimestre.

M. Aron : Nouvelles recherches sur les conditions de spécificité de la « Réaction du Cancer ». *C.R. des séances de la Soc. de Biol.*, 12 mai 1939. Tome 130, p. 530.

R. Aron : Nouvelle réaction sérologique de la syphilis. Son état actuel. *C.R. des séances de la Soc. de Physique Biol. de France*, 22 mars 1941. Tome 15, p. 38.

En ce qui concerne les réactions sérologiques de la syphilis, on trouvera tous les renseignements utiles dans la remarquable étude de Demanche. *Traité de la Syphilis de Jeanselme*, tome II, p. 207.

Pour la Pallidine : voir A. Vernes : Recherche sur la substance spécifique des humeurs syphilitiques. *C.R. des séances de l'Académie des Sciences*, 5 octobre 1936. Tome 203, p. 684.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction 7

Notions théoriques sur les méthodes de diagnostic sérologique de la syphilis 9

A) Méthodes de déviation du complément 9

B. Méthodes dites de floculation 14

Nature et mécanisme des réactions sérologiques de la syphilis. Etude comparative de leur valeur pratique 21

I. Nature et mécanisme des réactions sérologiques de la syphilis 21

II. Valeur comparée des réactions sérologiques de la syphilis 25

Nouvelle méthode sérologique du diagnostic de la syphilis 27

(A) *Bases théoriques* 27

I. La réaction du cancer d'Aron 27

II. Essai de réaction sérologique de la tuberculose 38

B) *Technique du séro-diagnostic de la syphilis* . . 39

I. Première technique 39

II. Deuxième technique 44

C) *Résultats du séro-diagnostic de la syphilis* . . 46

D) *Nature et mécanisme de la réaction* 48

Valeur pratique et théorique de la réaction . 53

Conclusions 54

Bibliographie 55

Vu et approuvé :
Le Président de thèse :
M. PAUTRIER.

Clermont, le 21 juin 1941.
Vu : *Le Doyen de la Faculté de Médecine de Strasbourg* :
André FORSTER.

Vu et permis d'imprimer :
Pour le Recteur de l'Académie de Strasbourg :
A. DANJON
Vice-Président du Conseil de l'Université.